

CAHIERS DU PRÉPARATEUR EN PHARMACIE

Isabelle CLAVERIE
Mireille PANET

Biochimie

2e édition



Biochimie

2e édition

Isabelle CLAVERIE
Mireille PANET
Sylvie BARBEAU



Isabelle Claverie est docteur en pharmacie et formatrice au centre de formation professionnelle de la pharmacie (Planchat, Paris) depuis 1998. Elle est également intervenante extérieure en milieu universitaire.

Mireille Panet est pharmacien et formatrice au centre de formation professionnelle de la pharmacie (Planchat, Paris) depuis 1998.

ISBN : 978-2-915585-74-2
Éditions Porphyre
1, rue Eugène-et-Armand Peugeot
92856 Rueil-Malmaison Cedex

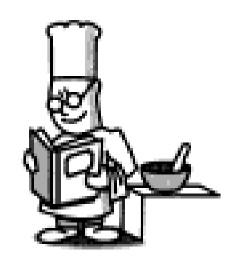
TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION

DÉFINITION ET OBJET DE LA BIOCHIMIE

La biochimie est l'étude des réactions chimiques chez les êtres vivants. Ces réactions ont pour but de produire l'énergie essentielle à tout organisme vivant, afin d'assurer sa conservation, son évolution et sa reproduction.
Malgré leur très grande diversité, tous les êtres vivants possèdent une structure de base identique. Les constituants de leurs cellules appartiennent aux mêmes familles de molécules (les glucides, les lipides, les protéines, les acides nucléiques) ou sont formés par l'association de celles-ci.
Dans cet ouvrage, nous étudierons la nature et les propriétés physico-chimiques de ces quatre familles de molécules. Cela permettra aux futurs préparateurs de mieux comprendre les propriétés physiologiques et pharmacologiques de certaines classes de médicaments de structure analogue. Ils pourront alors facilement comprendre le devenir de ces substances au sein de l'organisme.
Seront évoquées également les méthodes d'étude et d'analyse des composés biochimiques, celles-ci étant couramment utilisées en laboratoire comme test de dépistage ou de diagnostic. Cette connaissance facilitera le dialogue avec le patient à l'officine.

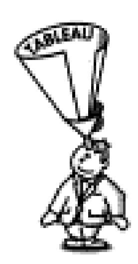
PICTOGRAMMES



Représente des conseils culinaires ou des informations en rapport avec la diététique.
Application du cours sur des exemples de cuisine.



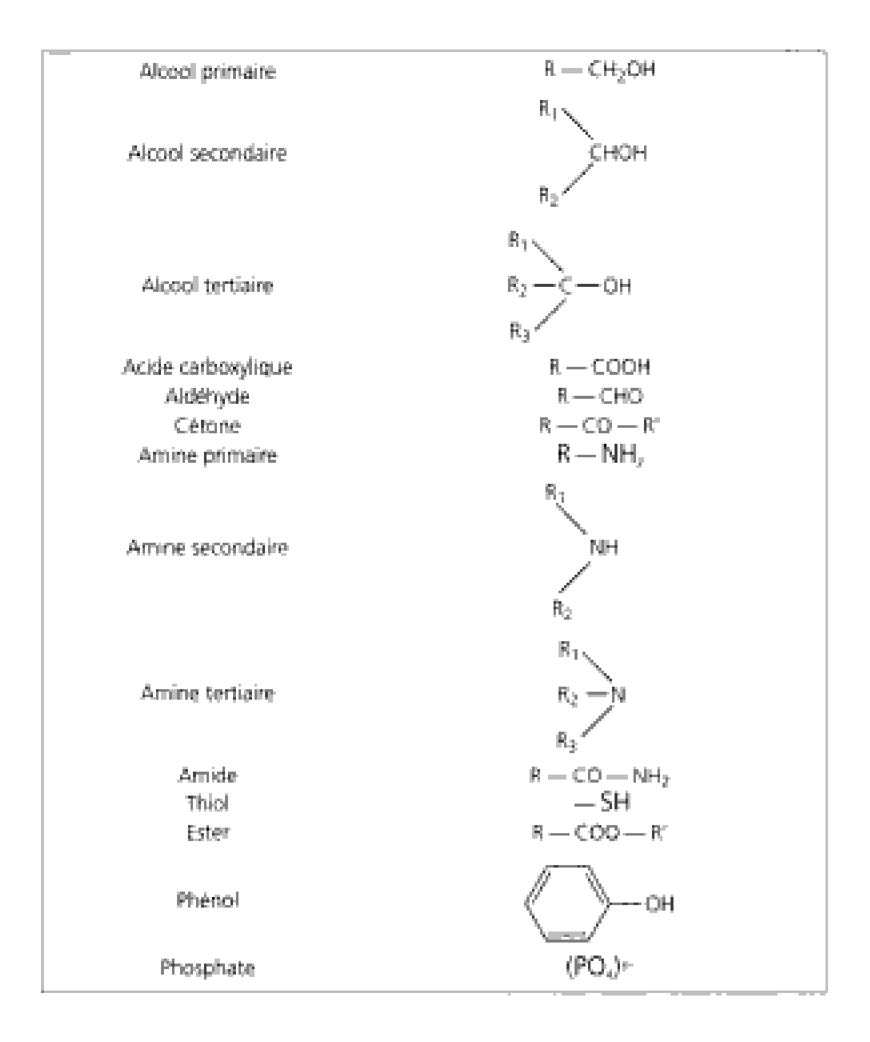
Symbolise une expérimentation de la méthode proposée.
Expérience réalisable à la maison pour mieux comprendre la technique exposée dans le cours.
Cette expérience est facilement réalisable.



Aide à la mémorisation : tableau ou schéma devant aider le lecteur à mémoriser des informations importantes.

AVANT-PROPOS

LES FONCTIONS CHIMIQUES UTILISÉES EN BIOCHIMIE



Alcool primaire	$R - CH_2OH$
Alcool secondaire	R_1, R_2 $\rangle$ $CHOH$
Alcool tertiaire	R_1, R_2, R_3 $- C - OH$
Acide carboxylique	$R - COOH$
Aldéhyde	$R - CHO$
Cétone	$R - CO - R'$
Amine primaire	$R - NH_2$
Amine secondaire	R_1, R_2 $\rangle$ NH
Amine tertiaire	R_1, R_2, R_3 $- N$
Amide	$R - CO - NH_2$
Thiol	$- SH$
Ester	$R - COO - R'$
Phénol	$C_6H_5 - OH$
Phosphate	$(PO_4)^{3-}$

Exercices

1. Pour les molécules suivantes, repérer le groupement fonctionnel et donner son nom.

a) $CH_3-CO-C(CH_3)_2-CH_2-CH_3$

b) $C_2H_5-CH(CH_3)-CHO$

c) $CH_3-C(CH_3)(CH_3)-CH_2-COOH$

d) $CH_3-C(C_3H_7)(CH_2-CH_3)-CO-NH_2$

2. Écrire la formule semi-développée des molécules suivantes, en précisant la place et le nom du groupement fonctionnel :
- 2-méthylbutanal ;
- méthylpropylamine ;
- propan2-ol ;
- acide 2,3-diméthyl-5-éthylhéxanoïque.

3. Pour chacune des molécules suivantes :
- entourer les fonctions et les nommer ;
- calculer la formule brute et la masse molaire.

A) (cycle benzénique portant COOH et CH_2-NH_2)

B) (cycle benzénique portant CHO et $CO-NH_2$)

C) (HO, CH_3, OH) **β-estradiol**

D) (cycle benzénique portant COOH et $O-CO-CH_3$) **Aspirine**

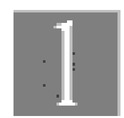
E) (HO, O, N, CH_3, HO) **Morphine**

F) (CH_3, CH_3, CH_3, HO, CH_3, CH_3) **Cholestérol**

G) (COOH) **Acide arachidonique**

CONSTITUTION DE LA MATIÈRE VIVANTE

Dans ce chapitre, nous rappelons quelques notions sur l'eau, les macroéléments, les éléments minéraux et les oligo-éléments, dont le rôle dans l'organisme humain est si important.



L'EAU H_2O

L'eau est le constituant principal de tout être vivant.

LES VARIATIONS DE LA TENEUR EN EAU CHEZ LES ÊTRES VIVANTS

La teneur en eau varie selon l'âge. Un nouveau-né possède 69 % d'eau, un homme adulte 63 % et la personne âgée peut avoir un taux de 58 %.
L'eau est répartie différemment selon les organes : les liquides de l'organisme comme le liquide gastrique en contiennent 95 à 99 %, les tissus comme les muscles 75 à 80 %, et le squelette 22 %.
Les besoins en eau sont donc très importants, ils se traduisent par la sensation de soif déterminée par l'augmentation de la pression osmotique intracellulaire.

LE BILAN DE L'EAU

Les apports d'eau sont de deux ordres :
- l'eau de boisson et des aliments d'une part ;
- l'eau métabolique, provenant de l'oxydation dans l'organisme des composés hydrogénés d'autre part.

Les pertes d'eau se font par les urines, les matières fécales, la sueur, la perspiration (ou vapeur éliminée par la peau de façon insensible) et enfin la vapeur d'eau exhalée par la respiration.
Le bilan hydrique doit être équilibré sur 24 heures. Le tableau ci-dessous présente les entrées et les sorties d'eau de l'organisme. Les valeurs respectives présentées sont modifiées par différents facteurs comme le milieu extérieur (chaleur, humidité, activité physique) et l'état physiologique de l'individu (âge, état pathologique, grossesse).

Entrées	Sorties
Eau alimentaire : quantité variable qui dépend de : • la quantité de boisson ingérée : (eau, thé, café...) régulée par la soif : 1 000 à 1 500 mL/24 h ; • la nature des aliments ingérés : les fruits et légumes contiennent 85 à 95 % d'eau ; les fromages 20 à 50 % **Eau d'oxydation endogène :** obtenue par les réactions enzymatiques de l'organisme : 200 - 300 mL	**Pertes cutanées :** transpiration, perspiration 300 mL **Pertes pulmonaires :** 400 à 500 mL **Pertes fécales :** 40 à 200 mL **Pertes urinaires :** régulées par la diurèse, 1 000 à 1 500 mL
Total : 2 300 à 2 500 mL/24 h	**Total : 2 300 à 2 500 mL/24 h**

LA RÉPARTITION DE L'EAU DANS L'ORGANISME

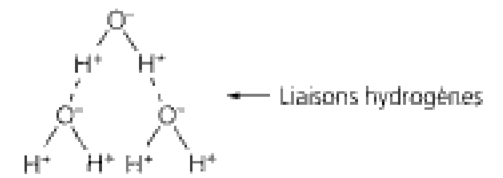
On distingue deux grands compartiments : un compartiment intracellulaire représentant 50 % du poids du corps et un compartiment extracellulaire qui correspond à 20 % du poids du corps. Le compartiment extracellulaire comprend : le liquide interstitiel et le plasma sanguin.
Ces deux parties sont séparées par la paroi des capillaires. Les milieux intra- et extracellulaire sont séparés par la membrane cytoplasmique dont la perméabilité est sélective.

LA STRUCTURE DE L'EAU

La formule brute de l'eau H_2O nous indique qu'un atome d'oxygène est relié à deux atomes d'hydrogène par des liaisons de covalence. En fait, l'oxygène possède deux doublets d'électrons qui ne sont pas engagés dans les liaisons avec l'hydrogène, ils constituent un pôle négatif. L'atome d'oxygène étant électronégatif attire vers lui les électrons des hydrogènes ; chaque atome d'hydrogène représente donc un pôle positif.
La molécule d'eau se présente donc comme un dipôle :

$$\delta^- \quad \delta^+ \quad \delta^+$$

Les molécules d'eau vont s'associer entre elles par des liaisons électrostatiques se créant entre les pôles négatifs et les pôles positifs. Ces liaisons sont appelées « liaisons hydrogènes ».
De pareilles liaisons peuvent se former entre des molécules possédant un atome d'hydrogène et des molécules portant un atome avec un pôle négatif.



Conséquence : la majorité des réactions biologiques se faisant en milieu aqueux, les molécules seront solubles dans l'eau lorsqu'elles seront polarisables, c'est-à-dire quand elles possèdent des groupements fonctionnels, tels qu'aldéhyde, cétone, acide, etc., qui peuvent être facilement polarisables.
Ceci est le phénomène de solvatation : les molécules sont dissoutes dans le solvant car enrobées de molécules d'eau grâce à ces liaisons hydrogènes.
En revanche, toute molécule formée d'une longue chaîne carbonée comme les acides gras est insoluble dans l'eau parce qu'incapable d'établir avec elle des liaisons hydrogènes ou ioniques.
Ceci explique que les lipides sont insolubles dans l'eau.



LES MACROÉLÉMENTS

Définition : les macroéléments sont un ensemble d'atomes contenus en forte quantité dans l'organisme. Six atomes sont concernés : le carbone, l'hydrogène, l'oxygène, l'azote, le soufre et le phosphore. Voyons les principales caractéristiques de ces éléments.

LE CARBONE (SYMBOLE CHIMIQUE : C ; VALENCE : 4)

Le carbone est l'élément primordial de la matière vivante, de nombreuses molécules biochimiques sont construites à partir d'un squelette carboné.
En effet, le carbone possède la propriété fondamentale de pouvoir s'associer à lui-même, réalisant ainsi la formation de squelettes linéaires, ramifiés ou cycliques. La liaison C—C est très stable et difficile à rompre.
Le carbone est à la fois électropositif et électronégatif ; il peut donc se lier à l'hydrogène d'une part, à l'oxygène et à l'azote d'autre part. Ceci explique la multitude de molécules biologiques formées à partir du carbone.

L'HYDROGÈNE (SYMBOLE CHIMIQUE : H ; VALENCE : 1)

L'hydrogène est l'élément le plus souvent associé au carbone pour la constitution de chaînes carbonées.
Il participe aux réactions d'oxydoréduction en tant que réducteur.

L'OXYGÈNE (SYMBOLE CHIMIQUE : O ; VALENCE : 2)

L'oxygène se retrouve dans les fonctions oxygénées : aldéhyde, cétone, alcool, acide…
Il s'associe à l'hydrogène pour former la molécule d'eau H_2O.
Il participe aux réactions d'oxydoréduction en tant que puissant oxydant.

L'AZOTE (SYMBOLE CHIMIQUE : N ; VALENCE : 3)

L'azote représente l'élément fondamental dans la constitution des protéines et des acides nucléiques. Il se lie à l'hydrogène pour former la fonction amine $-NH_2$.

LE SOUFRE (SYMBOLE CHIMIQUE : S ; VALENCE : 2)

Le soufre est lié à l'hydrogène dans la fonction thiol–SH. Par oxydation, il peut créer un pont disulfure –S–S–, stabilisant de cette façon des molécules comme l'insuline.

LE PHOSPHORE (SYMBOLE CHIMIQUE : P ; VALENCE : 3 OU 5)

Le phosphore se trouve dans l'organisme sous la forme de phosphate PO_4^{3-}. Il entre ainsi dans la constitution de molécules énergétiques comme l'ATP.

3 LES ÉLÉMENTS MINÉRAUX

Définition : les éléments minéraux sont un ensemble d'atomes présents dans la matière sèche à un taux compris entre 0,1 % et 1 %. Dans l'organisme humain, ils se trouvent toujours sous forme ionique.
Les plus importants sont : le sodium, le potassium, le calcium, le magnésium et le chlore.
Voyons les principales caractéristiques de ces éléments.

L'ION SODIUM Na^+

Il se trouve dans le milieu extracellulaire et a pour rôle principal de retenir l'eau à l'intérieur de l'organisme.
Natrémie = 141 ± 4 mmol/L.

Les entrées

Elles se font surtout par l'alimentation.
Les aliments riches en sodium sont : les fromages, le jambon, le lard, le bacon, le pain, les olives, les cornichons…
Les plats cuisinés industriels ainsi que les céréales de petit déjeuner sont souvent riches en NaCl.

Les sorties

L'élimination rénale du sodium se fait sous le contrôle de l'aldostérone, elle-même libérée par le système rénine-angiotensine.
Les pertes intestinales sont faibles, sauf en cas de diarrhées ou de fistules digestives.
Les pertes sudorales sont peu importantes, elles augmentent en cas de fortes chaleurs ou de pathologies particulières, comme la mucoviscidose.

Les rôles

Avec les chlorures, il est responsable de l'équilibre hydrique de l'organisme.
Cela signifie que plus l'organisme contient d'ion Na^+, plus il retient l'eau. Cela peut mener à une rétention hydrosodée (œdème) responsable d'une augmentation de la pression artérielle. En cas d'hypertension artérielle, il est recommandé de limiter la consommation de NaCl à moins de 6 g/jour.
En association avec le potassium, il permet la polarisation de la membrane cellulaire par le mécanisme de « la pompe à sodium » ; il permet alors le transport de nombreux substrats, comme le glucose, les acides aminés…

LE POTASSIUM K^+

Kaliémie = 4,2 ± 0,4 mmol/L.

Les entrées

Elles sont surtout alimentaires. Les fruits secs, les fruits frais (comme la banane), le chocolat, les légumes verts sont riches en potassium.

Les sorties

Par le rein, elles sont sous la dépendance de l'aldostérone. Elles sont augmentées par la prise de diurétiques hypokaliémiants (furosémide). Les diurétiques épargneurs de potassium en revanche s'opposent à l'aldostérone (spironolactone). L'hypo- ou l'hyperkaliémie provoquent des risques de troubles du rythme cardiaque. Lors de leur prescription, un suivi de la kaliémie est obligatoire. Pour limiter cet effet, des spécialités associant les deux catégories de diurétiques sont commercialisées.
En cas de diarrhées, les pertes intestinales peuvent être importantes.
En cas de fièvre ou d'efforts musculaires intenses, les pertes sudorales sont augmentées.

Les rôles

Le potassium participe au fonctionnement de la pompe à sodium et permet le maintien de la membrane au repos.
Il intervient dans la contraction musculaire et favorise le métabolisme en activant certaines enzymes.

LE CALCIUM Ca^{2+}

Le calcium est le cation extracellulaire le plus abondant de l'organisme.
Calcémie = 2,5 mmol/L.

Les entrées

Le lait et les produits laitiers sont la source essentielle de calcium, mais une grande partie n'est pas absorbée. Cette absorption dépend de la présence de vitamine D et de phosphore.

Les sorties

Elles sont surtout urinaires, sous le contrôle de la parathormone et de la calcitonine.

Les rôles

Le calcium est l'élément constitutif des os et des dents.
Il est indispensable à la contraction musculaire, permet la transmission des neuromédiateurs, contrôle l'hémostase et intervient dans la polarisation de la membrane cellulaire.

LE MAGNÉSIUM Mg^{2+}

Le magnésium est un ion intracellulaire.
Magnésémie = 0,83 mmol/L.

Les entrées

L'alimentation n'assure pas toujours un apport suffisant. Les fruits secs, le chocolat, les noix, etc. sont des aliments riches en magnésium. Un excès de lipides, de calcium et une consommation d'alcool diminuent l'absorption du magnésium par l'organisme.

Les sorties

L'élimination du magnésium est rénale.

Les rôles

Le magnésium intervient comme coenzyme dans de nombreuses réactions métaboliques ; il active les enzymes de la famille des kinases.
Il présente une action sédative, favorise la contraction et la relaxation des muscles striés et des muscles lisses.
Il est hépatoprotecteur, en particulier chez l'alcoolique.

LE CHLORURE Cl^-

Le chlorure est un anion associé aux cations pour donner des chlorures, dont le plus important est le chlorure de sodium NaCl. C'est un ion extracellulaire.
Chlorémie = 100 mmol/L. Ses valeurs sont généralement liées à celle du sodium (natrémie).

Les entrées

Elles sont alimentaires, la majeure partie sous forme de chlorure de sodium (sel de cuisine) contenu dans tous les aliments.

Les sorties

Elles sont urinaires.
Lors de vomissements, de diarrhées, de lavage gastrique, la perte de chlore peut être très importante.

Son rôle

Il est présent dans toutes les sécrétions digestives, en particulier dans le suc gastrique (HCl) et en accompagnateur du Na (NaCl).



LES OLIGO-ÉLÉMENTS

Définition : Bien que présents en quantités infimes dans l'organisme, toute carence en oligo-éléments peut entraîner des perturbations importantes dans le fonctionnement de la cellule. À fortes doses également, certains se révèlent toxiques pour l'organisme.

Ils se retrouvent soit à l'état atomique, comme le fer, soit sous forme d'anions ou de cations.

Nous n'étudierons ici que les oligo-éléments les plus couramment rencontrés.

Ces oligo-éléments, encore nommés « éléments traces » sont souvent délivrés à l'officine sous la forme d'Oligosol® soit en conseil, soit sur prescription médicale. Il est nécessaire de bien connaître leur action et leurs effets toxiques. Ne pas oublier que la carence comme l'excès sont néfastes à l'organisme.

LE FER Fe

Le fer est présent dans l'organisme dans l'hémoglobine, au sein de l'hème, ou bien associé à des protéines dans le plasma sanguin.

La teneur en fer du sérum est de 1,20 mg/L chez l'homme et de 1,05 mg/L chez la femme.

La carence en fer se traduit par un défaut d'oxygénation, une diminution de la résistance immunitaire et enfin par une anémie microcytaire hypochrome. Les personnes à risque sont les enfants, les femmes en période d'activité génitale et les femmes enceintes en fin de grossesse.

Le fer se trouve principalement dans la viande rouge et les abats. Il se trouve également dans certains végétaux comme les lentilles.

Son absorption intestinale est favorisée par la présence des vitamines C (agrumes, persil cru) et B9 (légumes à feuilles vertes). Elle est diminuée par la prise concomitante de tanins (thé), de phytate (pain complet), de calcium et de magnésium.

LE FLUORURE F^-

Le fluor joue un rôle important dans la synthèse des dents et dans la prévention des caries.

La carence en fluor se traduit par un retard dentaire chez l'enfant et une augmentation du nombre de caries chez l'adulte.

Une dose supérieure à 1 mg/j peut entraîner une toxicité : la fluorose. Elle se manifeste par des troubles de l'ossification, du système nerveux et des structures neuromusculaires.

L'eau est l'une des sources d'apport de fluor, ainsi que certains sels de table et les dentifrices.

LE ZINC Zn^{2+}

Le zinc favorise le transport de la vitamine A, la multiplication cellulaire et la cicatrisation. Il est nécessaire à la synthèse de l'insuline.

Sa carence se traduit par des difficultés visuelles, sexuelles, des maladies de la peau et la chute des cheveux. En excès dans l'organisme, sa toxicité est faible.

Le zinc se trouve dans les poissons, les huîtres et la viande.

LE CUIVRE Cu^+/Cu^{2+}

Le cuivre joue un rôle primordial dans la synthèse du collagène, de l'élastine et de l'hémoglobine. Il intervient dans le fonctionnement du système nerveux et agit comme coenzyme dans de nombreux métabolismes.

Il présente également des activités antivirale, anti-inflammatoire et anti-infectieuse des états grippaux et rhumatismaux.

Il permet l'absorption du fer et la fixation du Ca et du P dans les os.

Une carence en cuivre peut déterminer un dysfonctionnement immunitaire (carence de défense de l'organisme).

Une carence en cuivre se manifeste par une anémie, des troubles nerveux et des maladies de peau.

Les fruits de mer, le foie et les céréales en sont riches ainsi que le chocolat, les amandes, le foie, l'avocat et la levure de bière.

LE SÉLÉNIUM Se

Le sélénium associé à la vitamine E est un antioxydant majeur.

Il est utilisé en prévention des maladies cardio-vasculaires dues à une accumulation de radicaux libres, des cancers du sein, de la peau et du côlon. Son rôle a été démontré dans la prévention du vieillissement.

Une carence a été observée dans une partie très pauvre de la Chine, se traduisant par une cardiomyopathie.

À fortes doses, il provoque des dépressions et une faiblesse musculaire.

Les viandes, les poissons et les céréales, aliments riches en protéines et en soufre, constituent les meilleures sources alimentaires en sélénium.

LE LITHIUM Li

Oligo-élément indispensable au fonctionnement du système nerveux, il est utilisé en psychiatrie comme thymorégulateur.

Zone thérapeutique : 0,6-0,8 mmol/L. Intoxication : > 2 mmol/L.

Attention cependant, à fortes doses, il peut être toxique : exemple avec une déplétion hydrosodée qui peut entraîner une intoxication en lithium par augmentation de sa réabsorption.

On le trouve dans les salades, les pommes de terre, les radis, le chocolat et certains crustacés.

LES AUTRES OLIGO-ÉLÉMENTS

Le tableau ci-après présente succinctement d'autres oligo-éléments.

Noms	Rôle dans l'organisme/Excès/Carence	Sources alimentaires
Aluminium Al	Agit sur certains troubles neuropsychiques Un excès d'aluminium est susceptible d'entraîner une atteinte rénale ou neurologique	H_2O, tous les légumes en faible quantité
Argent Ag	Antiseptique et anti-infectieux de la sphère ORL	H_2O, tous les légumes en faible quantité
Chrome Cr	Intervient dans l'action de l'insuline Régulateur de la tension artérielle	Cresson, champignons, fruits de mer, abats, œuf entier, levure de bière
Cobalt Co	Spasmolytique sur les fibres musculaires lisses : améliore les troubles circulatoires. Entre dans la composition de la vitamine B12 (combat l'anémie) Un excès de cobalt peut aggraver et déclencher une atteinte cardiaque (cardiomyopathie des buveurs de bière)	Girolle, ris de veau, abats, tomate, chou, lentilles, oléagineux, fruits secs, fruits de mer, carotte, blé, prune
Iode I	Indispensable au métabolisme de base (fonctionnement de la thyroïde), au développement psychomoteur. Sa carence est responsable d'hypothyroïdie	Tous les produits de la mer Légumes verts, pruneaux, ail, ananas, banane
Manganèse Mn	Antiallergique	Amande, légumes secs, radis, betterave, céleri, prune
Nickel Ni	Antidiabétique, activateur des sucres	Chocolat, noisettes, pommes, céréales complètes, oignon
Soufre S	Détoxication du foie, respiration cellulaire Qualité de la peau, présent dans certains acides aminés (Cys, Met), action mucolytique	Ail, amande, avocat, noix, céréales, cresson, œuf, framboise, fromage, pommes de terre

Exercices

1. Pourquoi les nourrissons et les personnes âgées sont-ils plus sensibles à la déshydratation ?

2. Pourquoi une modification de la natrémie modifie-t-elle la lithiémie ?

3. Laquelle est exacte ? Le sodium :
- **a.** a pour symbole chimique Na^{2+} ;
- **b.** voit son absorption digestive contrôlée par l'aldostérone ;
- **c.** est responsable avec le potassium de la polarisation des membranes ;
- **d.** sa concentration dans les urines s'appelle la « natrémie » ;
- **e.** est sans effet sur la teneur en eau de l'organisme.

4. Laquelle est exacte ? Le potassium :
- **a.** a pour symbole chimique P ;
- **b.** son élimination urinaire est régulée par l'aldostérone ;
- **c.** est responsable du maintien de la pression osmotique ;
- **d.** sa concentration dans les urines s'appelle « kaliémie » ;
- **e.** est majoritairement éliminé dans les selles.

5. Laquelle est exacte ? Le potassium :
- **a.** est sans effet sur la polarisation des membranes ;
- **b.** l'hypokaliémie est sans effet sur la régulation du rythme cardiaque ;
- **c.** n'intervient pas dans le maintien du potentiel de membrane ;
- **d.** sa concentration dans le plasma s'appelle « kaliémie » ;
- **e.** est déconseillé dans la diététique sportive.

LES LIPIDES



INTRODUCTION

DÉFINITION ET PROPRIÉTÉS PHYSIQUES

Les lipides (du grec *lipos* : graisse) correspondent à ce que le langage usuel désigne sous le nom de « matières grasses ». Ils forment un groupe hétérogène de composés, dont les structures chimiques sont très différentes. Leur seul point commun est une propriété physique : leur **insolubilité dans l'eau** et leur **solubilité dans les solvants organiques**. C'est ce qui en fait des lipides :

- **insolubles dans l'eau** : ces composés sont dépourvus de liaison polaire. Ils sont donc incapables de former des liaisons hydrogènes avec l'eau, ce qui permettrait leur solubilisation ;
- **solubles dans les solvants organiques** : benzène, éther, acétone, mélanges chloroforme–alcools…

Les méthodes de séparation feront appel à ces différences de solubilité.

Tous les corps gras alimentaires sont constitués de lipides. La distinction entre huiles et graisses repose sur le point de fusion des composés :

- les huiles sont fluides à température ordinaire ;
- les graisses sont solides ou concrètes.

Le point de fusion des huiles est moins élevé que celui des graisses puisque, à température ambiante, les huiles ont déjà fondu : elles sont liquides.

FONCTIONS DES LIPIDES DANS L'ORGANISME HUMAIN

Dans l'organisme humain, la grande famille des lipides a des fonctions différentes selon leur nature et leur distribution :

- les **lipides de réserve** : se trouvent dans les tissus adipeux de l'organisme. Ce sont des substances de réserve capables de fournir de l'énergie ; l'oxydation de 1 g de lipide libère 38 kJ, soit 9 kcal, contre 4 kcal pour 1 g de glucide ou de protide ;
- les **lipides de structure** : sont des constituants essentiels des membranes cellulaires (les bicouches phospholipidiques), des glycérophospholipides, des sphingomyélines (constituants de la gaine de myéline), des glycolipides et du cholestérol ;
- les **lipides fonctionnels** : le cholestérol est le précurseur de certaines hormones lipophiles (hormones sexuelles, cortisol). L'acide arachidonique permet la fabrication des prostaglandines, des leucotriènes et du thromboxane. Les vitamines liposolubles (A, D, E, K) sont également des lipides.

Les lipides sont ainsi des constituants indispensables au fonctionnement de l'organisme.

CLASSIFICATIONS

Les matières grasses alimentaires sont les dérivés naturels des acides gras condensés avec des alcools ou des amines.

$$R{-}COOH + R'{-}OH \longrightarrow R{-}COO{-}R' + H_2O$$

$$R{-}COOH + R'{-}NH_2 \longrightarrow R{-}CO{-}NH{-}R' + H_2O$$

La constitution de R' sert de première classification des lipides.

Classification selon la composition élémentaire

La classification est basée sur l'analyse élémentaire du composé, c'est-à-dire la nature de la molécule fixée sur l'acide gras. Le tableau ci-après présente succinctement la classification des lipides.

Les lipides simples

Ils sont exclusivement formés de C, H, O :

- glycérides ou acylglycérols : esters d'acides gras et de glycérol ;
- cérides : esters d'acides gras et d'alcools gras, à poids moléculaire élevé (origine animale ou végétale : cire d'abeille) ;
- stérides : esters d'acides gras et de stérol (dont le principal représentant est le cholestérol).

Les lipides complexes

Ils sont formés de C, H, O, N, P et éventuellement de S :

- glycérophospholipides :
  - lipides phosphorés (acides phosphatidiques) ;
  - phosphatidylcholines (lécithines) ;
  - phosphatidyléthanolamines et phosphatidylsérines (céphalines) ;
- sphingolipides :
  - lipides azotés ;
  - céramides : sphingolipides ;
  - sphingomyéline (possèdent N et P).

	Fixé à	Forme	Réagit à	Forme		Fait partie de la famille des
Acides gras saturés ou insaturés	Alcools gras	Cérides (cires en général)				Lipides simples
	Cholestérol	Stérides				
	Glycérol	Triacylglycérols = triglycérides				
	3-glycérophosphate	Acide phosphatidique	Choline $HO\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}N(CH_3)_3^+$	Lécithine = phosphatidylcholine (constituant des molécules de transport des lipides dans le plasma)		Lipides complexes
			Sérine $HO\text{-}CH_2\text{-}CH(COOH)\text{-}NH_2$	Phosphatidylsérine	Céphaline (présence importante dans le cerveau)	
			Éthanolamine $HO\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}NH_2$	Phosphatidyléthanol amine		
			Inositol	Phosphatidylinositol		
	Sphingosine $HO\text{-}CH_2\text{-}CH(NH_2)\text{-}CH(OH)\text{-}CH = CH\text{-}(CH_2)_{12}\text{-}CH_3$	Céramides	Polyosides à acide sialique	Gangliosides		
			Oses	Cérébrosides	(Présence importante dans le cerveau)	
			Choline $HO\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}N(CH_3)_3^+$	Sphingomyéline (constituants membranaire, en particulier de la gaine de myéline et les nerfs)		

Classification selon une propriété chimique commune

Si le lipide se présente sous la forme d'ester ou d'amide, il peut subir une réaction de coupure par l'eau, nommée **hydrolyse**, donnant naissance à l'acide gras et à l'alcool ou l'amine. Cette hydrolyse, réalisée en milieu alcalin, s'appelle une **saponification**. La classification des lipides peut se faire selon que la molécule est ou non saponifiable :

- **lipides saponifiables** : glycérides, stérides, cérides, glycérophospholipides, sphingolipides ;
- **lipides insaponifiables** : terpènes, stéroïdes, prostaglandines.



2 LES LIPIDES SIMPLES

Cette famille réunit les lipides constitués exclusivement de C, H et O. Plusieurs types de composés existent.

LES ACIDES GRAS NATURELS

On les trouve en petites quantités à l'état libre, mais en grandes quantités engagées dans des liaisons esters ou parfois amides. C'est sous cette forme qu'ils existent dans les aliments.

Définition : les acides gras sont des acides monocarboxyliques, à chaîne linéaire non ramifiée comprenant un nombre pair d'atomes de carbone (entre 4 et 40). Ils peuvent être saturés ou insaturés (présence d'une ou plusieurs doubles liaisons dans la molécule), parfois hydroxylés, ramifiés ou cycliques.

Propriétés physiques des acides gras

La solubilité

Les acides gras sont insolubles dans l'eau, sauf pour les premiers de la série. C'est la conséquence de la constitution des acides gras en deux zones :

• une chaîne carbonée comparable à celle des hydrocarbures, hydrophobe ;
• un groupement carboxylique terminal polaire, ionisé et hydrophile.

Selon la proportion relative de chaque zone, la molécule est soluble ou non dans l'eau. À partir de huit atomes de C, les acides gras saturés sont toujours insolubles dans l'eau.

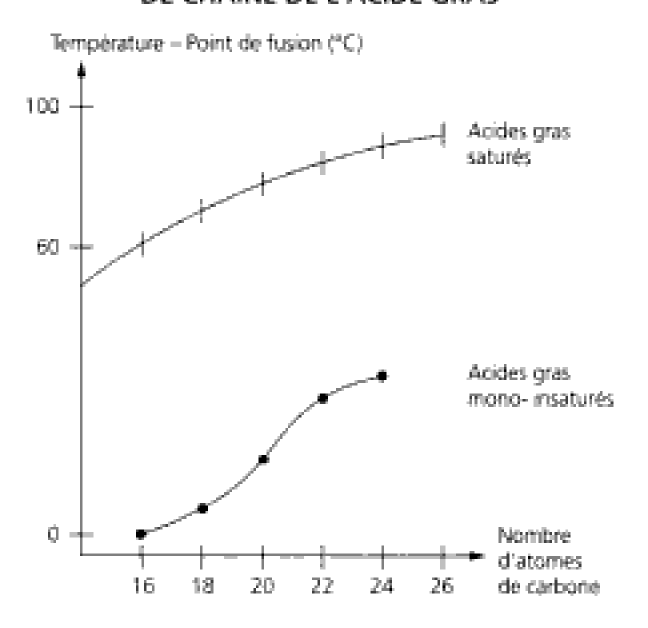
Ils sont solubles dans les solvants organiques peu polaires comme le benzène, l'éther ou le chloroforme. On met à profit cette propriété pour extraire les acides gras et les lipides de leur milieu naturel.

Les sels alcalins (Na^+, NH_4^+) sont obtenus par saponification. Ils sont solubles dans l'eau et constituent les **savons**. Les anions $RCOO^-$ ont un pôle hydrophile et un pôle hydrophobe. Dans l'eau, les molécules s'orientent en tournant leur pôle hydrophile vers l'eau. Le pôle hydrophobe se trouve à l'intérieur. Ce dernier piège les produits lipophiles et permet leur élimination dans l'eau. C'est le principe du nettoyage par le savon. Le premier savon créé par les Romains à Marseille était obtenu par saponification d'huiles végétales, entre autres d'huile d'olive. La recette du savon de Marseille reste aujourd'hui inchangée.

Le point de fusion

Il augmente avec la longueur de la chaîne. À température ordinaire, les acides gras sont liquides jusqu'à dix atomes de C. La présence de doubles liaisons dans la chaîne carbonée abaisse le point de fusion, à longueur de chaîne identique.

COURBE REPRÉSENTANT LES VARIATIONS DES POINTS DE FUSION SELON LA LONGUEUR DE CHAÎNE DE L'ACIDE GRAS



Le point d'ébullition

Il augmente avec la longueur de la chaîne. La présence de doubles liaisons l'influence peu.

La densité

Les acides gras et les lipides possèdent un grand nombre d'atomes légers (C, H). Les molécules sont volumineuses, mais peu denses. C'est pourquoi la masse volumique des acides gras est inférieure à l'eau, ce qui explique que les lipides flottent sur l'eau !

Propriétés chimiques des acides gras

Il s'agit de réaction d'addition sur les doubles liaisons :

Hydrogénation catalytique

Addition d'une molécule d'hydrogène sur la double liaison, menant à la saturation de cette dernière. Une hydrogénation catalytique peut être partielle ou totale :
• totale, elle conduit à l'analogue saturé ;
• partielle, elle diminue le degré d'insaturation de la molécule.

L'hydrogénation vise à obtenir à partir d'huiles liquides des graisses solides. Ce phénomène est appelé « durcissement des huiles ». Des huiles végétales sont rendues consommables sous forme de margarines ou de pâtes à tartiner grâce à cette technique, par exemple les huiles de coton et de soja. Cependant, l'hydrogénation des huiles diminue les qualités nutritionnelles, car elle diminue le taux d'insaturation.

Siccativité

Addition de molécules d'oxygène sur la double liaison. Elle correspond surtout à une résinification d'huiles très polyinsaturées qui se polymérisent à l'air, surtout en présence d'activateurs (Mn^{2+}, Pb^{2+}, Co^{2+}). Les peroxydes formés sont les précurseurs de réseaux macromoléculaires tridimensionnels. En même temps, sont libérés du CO, du CO_2, des aldéhydes et des acides volatils. Plus un acide gras contient de doubles liaisons, plus il peut subir cette réaction d'oxydation (par exemple, l'huile de lin : application en peinture).

Rancissement

Oxydation de la double liaison par l'oxygène de l'air ou par un oxydant tel le permanganate de potassium ou l'ozone. Les huiles riches en acides polyinsaturés rancissent en vieillissant. Le rancissement est dû à une oxydation à l'air d'autant plus aisée qu'il y a des doubles liaisons conjuguées. Des peroxydes se forment puis se transforment en aldéhydes malodorants. L'oxydation se poursuit par la formation d'acides carboxyliques donnant le goût acide et piquant des beurres et huiles rances. Le beurre rance est utilisé dans la cuisine maghrébine comme exhausteur de goût (la graine de couscous y est roulée avant d'être cuite).

Indice d'iode

Les halogènes (iode, brome, chlore) peuvent se fixer sur les doubles liaisons par une réaction d'addition. L'addition de l'iode est utilisée comme indice de pureté des lipides. Elle est alors appelée **indice d'iode**. L'indice d'iode est constant pour une matière grasse pure. Sa détermination figure à la Pharmacopée et sert de critère de pureté d'un corps gras.

Définition : c'est la masse d'iode, exprimé en gramme, qui peut être fixée sur 100 grammes de lipides.

Calcul de l'indice d'iode I de l'acide oléique (mono-insaturé) :

$$C_{18}H_{34}O_2 + I_2 \longrightarrow C_{18}H_{34}O_2I_2$$

282,5 → 254

100 → I

$$I = \frac{254 \times 100}{282,5} = 89,9$$

- 282,5 g/mol représentent la masse molaire de l'acide oléique ;
- 254 g/mol représentent la masse molaire de l'iode I_2.

Les différents acides gras

Les acides gras saturés

Ils ne comportent aucune double liaison entre les atomes de carbone.

Les acides gras saturés sont désignés soit par leur nom usuel en rapport avec leur origine (acide butyrique extrait du beurre, acide palmitique extrait de la palme), soit par la nomenclature officielle des acides carboxyliques.

Les acides gras saturés correspondent aux formules suivantes

- formule semi-développée (FSD) : $CH_3—(CH_2)_m—COOH$;
- formule brute ou moléculaire (FB) : $C_nH_{2n}O_2$.

Les principales sources sont :

- les produits d'origine animale comme le beurre, le saindoux, la viande, la volaille, le fromage et le lait entier.
- les produits d'origine végétale comme les huiles de palme, de coprah, de coco.

Exemples :

- acide butyrique ou butanoïque :
  FSD : $CH_3—CH_2—CH_2—COOH$
  Formule moléculaire : $C_4H_8O_2$
- acide laurique :
  FSD : $CH_3—(CH_2)_{10}—COOH$
  FB : $C_{12}H_{24}O_2$
- acide palmitique :
  FSD : $CH_3—(CH_2)_{14}—COOH$
  FB : $C_{16}H_{32}O_2$
- acide stéarique :
  FSD : $CH_3—(CH_2)_{16}—COOH$
  FB : $C_{18}H_{36}O_2$
- acide arachidique :
  FSD : $CH_3—(CH_2)_{18}—COOH$
  FB : $C_{20}H_{40}O_2$

Les acides gras insaturés

Ils comportent une (acides gras mono-insaturés) ou plusieurs (acides gras polyinsaturés) doubles liaisons entre les carbones de leur chaîne.

Ces doubles liaisons sont en général des liaisons **cis** (ou isomère Z), ce qui limite l'encombrement stérique par suite du repliement en U.

Les principales sources sont :

- les huiles végétales fluides (olive, noisette, colza, arachide, etc.) pour les acides mono-insaturés ;
- les huiles végétales de pépins de raisin, de tournesol, de noix, de maïs, de soja, de germe de blé, de colza, etc. pour les acides polyinsaturés ;
- les margarines partiellement hydrogénées, produites par hémisynthèse, en contiennent, ainsi que des acides gras trans.

Beaucoup d'acides gras polyinsaturés sont dits « essentiels » : l'organisme ne peut pas les synthétiser, alors qu'ils sont indispensables à la constitution des tissus organiques et des membranes cellulaires (surtout des neurones du cerveau), au métabolisme (synthèse du cholestérol et élaboration des prostaglandines). Ils doivent donc être apportés par l'alimentation.

Ces acides gras essentiels seront présentés dans les paragraphes « Acides gras oméga 6 » et « Acides gras oméga 3 ».

Structure chimique et nomenclature

Les acides gras mono-insaturés correspondent aux formules générales suivantes :

FSD : $CH_3—(CH_2)_m—CH = CH—(CH_2)_p—COOH$

Formule moléculaire : $C_nH_{2n-2}O_2$

Exemples d'acide gras mono-insaturés :

- acide oléique :
  FSD : $CH_3—(CH_2)_7—CH = CH—(CH_2)_7—COOH$
  FB : $C_{18}H_{34}O_2$
- acide palmitoléique :
  FSD : $CH_3—(CH_2)_5—CH = CH—(CH_2)_7—COOH$
  FB : $C_{16}H_{30}O_2$
- acide undécylénique :
  FSD : $CH_2 = CH—(CH_2)_8—COOH$
  FB : $C_{11}H_{20}O_2$.

Doué de propriétés fongistatiques vis-à-vis des teignes tondantes, on le rencontre dans la graisse des cheveux d'adulte. Son absence chez les enfants explique la fréquence de la teigne chez eux. La thérapie utilise cet acide et ses sels de Ca et Zn dans le traitement de cette mycose (Mycodécyl®).

Les acides gras polyinsaturés

Pour les acides gras polyinsaturés, il n'y a pas de formule semi-développée générale, car elle varie selon le nombre d'insaturations.

Exemples :

- acide linoléique :
  FSD : $CH_3—(CH_2)_4—CH = CH—CH_2—CH = CH—(CH_2)_7—COOH$
  FB : $C_{18}H_{32}O_2$
- acide alpha-linolénique :
  FSD : $CH_3—CH_2—CH = CH—CH_2—CH = CH—CH_2—CH = CH—(CH_2)_7—COOH$
  FB : $C_{18}H_{30}O_2$
- acide arachidonique :
  FSD : $CH_3—(CH_2)_4—CH = CH—CH_2—CH = CH—CH_2—CH = CH—CH_2—CH = CH—(CH_2)_3—COOH$
  FB : $C_{20}H_{32}O_2$

La majorité des acides gras qui nous intéressent en biochimie sont munis de doubles liaisons non conjuguées, séparées par un groupement méthyle ($—CH_2—$).

Nomenclature des acides gras

En utilisant les règles officielles de nomenclature, la numérotation des carbones se fait à partir du carboxyle COOH (carbone n° 1) vers le CH_3 terminal.

La double liaison est représentée par le symbole Δ, accompagnée du chiffre correspondant au premier atome de C participant à la double liaison.

S'il y a plusieurs doubles liaisons, ces chiffres de carbones participant aux doubles liaisons sont écrits à la suite.
Exemples :
- acide oléique : C_{18}, Δ^{9} ;
- acide linoléique : C_{18}, $\Delta^{9,12}$;
- acide alpha-linolénique : C_{18}, $\Delta^{9,12,15}$.

On utilise de plus en plus une autre numérotation :
Le carbone n° 1 est le CH_3. La lettre C pour carbone est suivie du nombre de carbones de la chaîne. La présence de doubles liaisons est signalée par « ω » suivi du nombre de ces doubles liaisons. Puis la position de la première double liaison rencontrée à partir du CH_3 est signalée par le symbole « ω » (oméga) suivi du numéro du premier carbone portant cette double liaison.
Exemples :
- acide oléique : C18 : 1 ω9 représentant la famille des acides gras « oméga 9 » ;
- acide linoléique : C18 : 2 ω6 représentant la famille des acides gras « oméga 6 » ;
- acide alpha-linolénique : C18 : 3 ω3 représentant la famille des acides gras « oméga 3 ».

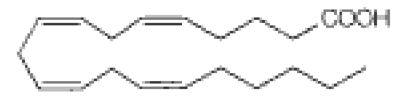
La diététique s'intéresse de plus en plus aux différentes familles d'oméga, surtout les « oméga 6 » et les « oméga 3 ». Développons un peu plus ces deux familles pour en voir l'intérêt :

Les acides gras oméga 6 et oméga 3
L'acide linoléique (LA) et l'acide alpha-linolénique (ALA) sont à l'origine de deux chaînes métaboliques : les oméga 6 et les oméga 3.

- **Les acides gras oméga 6**

Rôle
Ils participent à la synthèse de substances ayant un rôle important pour le système nerveux, l'équilibre cardio-vasculaire, l'immunité, les réactions allergiques et inflammatoires.
L'acide linoléique est l'acide gras essentiel à partir duquel tous les autres sont synthétisés : notamment l'acide arachidonique. Cet acide gras indispensable en C20, entièrement cis, se rencontre dans de nombreux lipides animaux (huiles de poisson gras tel le hareng), et dans les phospholipides. L'acide arachidonique est le précurseur des prostaglandines, des leucotriènes (impliqués entre autres dans les phénomènes inflammatoires) et du thromboxane A2 lié à la coagulation.

FORMULE DE L'ACIDE ARACHIDONIQUE



Principales sources alimentaires des oméga 6
- sources végétales : huiles de pépins de raisin, de tournesol, de noix, de maïs, de germe de blé, de soja, d'arachide, de colza, d'olive... margarines au tournesol ;
- sources animales : les œufs entiers, le beurre, l'huile de foie de morue, la graisse d'animaux.

- **Les acides gras oméga 3**

Ils sont synthétisés par l'organisme à partir de l'acide alpha-linolénique.
Les deux acides gras fondamentaux de cette famille sont l'acide eicosapentaenoïque (EPA) et l'acide docosahexaénoïque (DHA).

Rôle
L'EPA contribue à la protection des artères et du cœur, et ses dérivés ont des effets anti-inflammatoires et antiallergiques.
Le DHA joue un rôle fondamental dans le développement du cerveau et de la rétine, ainsi que dans la motilité des spermatozoïdes.

Principales sources alimentaires des oméga 3
- sources végétales : huile et graine de lin, de chanvre, huile de noix, soja et huile de soja, huile de germe de blé, huile d'œillette ;
- sources animales : poissons et huiles de poisson gras, beurre.

La présence des acides oméga 3 en quantité importante dans les poissons gras expliquerait un faible taux de maladies cardio-vasculaires chez les populations qui en consomment beaucoup (Esquimaux, Inuits).
Un apport correct en vitamines, oligo-éléments et minéraux (Zn, Mg, Se, vitamines B6, B9 et C) est cependant nécessaire à la transformation de ces deux acides gras par le métabolisme.
L'acide alpha-linolénique (ALA) est particulièrement présent dans les graines et l'huile de lin, de chanvre, ainsi que dans l'huile de soja.
L'acide EPA peut être synthétisé dans notre organisme à partir de l'acide ALA, mais il peut aussi se trouver directement chez certains poissons gras.
L'acide DHA est également présent dans les poissons gras et dans le lait maternel.

Les acides gras hydroxylés

Ce sont des acides gras saturés ou non. Ils possèdent un groupement hydroxyle (—OH) sur un des carbones.
Les végétaux sont capables de synthétiser toute une série d'acides gras hydroxylés, tel l'acide ricinoléique = acide 12-hydroxyoléique (Z)
FSD :
$CH_3—(CH_2)_5—CH(OH)—CH_2—CH═CH—(CH_2)_7—COOH$
ou FB : $C_{18}H_{34}O_3$

Chez les mammifères, on trouve d'autres types d'acides gras hydroxylés. Les cellules de l'épiderme ont des lipides renfermant des acides gras ω hydroxylés à très longue chaîne, qui ont un rôle dans la structure de ce tissu particulier.

Les acides gras ramifiés

Les acides gras méthylés existent dans de nombreuses espèces bactériennes. Les bactéries Gram+ sont riches en acides gras méthylés, et non les bactéries Gram–, bien qu'il y ait cependant des exceptions (les légionelles).
Le bacille de Koch, bactérie responsable de la tuberculose, est entouré par une épaisse couche cireuse. Il est particulièrement riche en acides gras méthylés : acides tuberculostéarique (C18 : méthyle en C10) et phtiénoïque.
Mais les groupements alkyls peuvent être longs. On trouve dans le bacille de la diphtérie l'acide corynomycolique. Il comporte un groupement hexadécyle en C2.

Les acides gras cycliques

Pour l'organisme humain, les plus connus sont les prostaglandines (PG), les leucotriènes (LT) et le thromboxane A2.

Les PG et LT dérivent de l'acide arachidonique (cascade arachidonique) par action de la cyclo-oxygénase inhibée par l'aspirine et de la lipoxygénase.

Ils interviennent dans :

- les phénomènes inflammatoires : chimiotactisme, vasodilatation et augmentation de la perméabilité vasculaire ;
- la transmission de la sensation de douleur et la fièvre.

Ils provoquent également la contraction de l'utérus et des muscles lisses.

Quant au thromboxane A2, il intervient dans l'agrégation plaquettaire.

On trouve ces molécules dans l'organisme entier, notamment le thymus, le pancréas, les poumons, le cerveau. Chimiquement, elles font partie de la famille des eicosanoïdes.

LES PRINCIPAUX GROUPES DE LIPIDES

Les glycérides

Ce sont les composés obtenus par estérification des fonctions alcools du glycérol par des acides gras.

Glycérol : trialcool formé à partir du glucose ou de précurseurs en C3, le glycérol se présente sous la forme d'un liquide sirupeux, sucré et hygroscopique. À l'état libre, il est métabolisé en glucose. Miscible à l'eau, il est également soluble dans l'eau.

$CH_2OH—CHOH—CH_2OH$: glycérol

Glycérides : on distingue les mono-, les di- et les **triacylglycérols ou triglycérides**. Ils diffèrent par la nature et la position des acides gras estérifiés (*cf.* tableau ci-après).

STRUCTURES CHIMIQUES DES MONO-, DI- ET TRIGLYCÉRIDES

1 CH_2-O-R 2 $CH-O-H$ 3 CH_2-O-H	1 CH_2-O-H 2 $CH-O-R'$ 3 CH_2-O-H
Monoglycéride ou monoacylglycérol	
1 CH_2-O-R 2 $CH-O-R'$ 3 CH_2-O-H	1 CH_2-O-R 2 $CH-O-H$ 3 CH_2-O-R'
Diglycéride ou diacylglycérol	
1 CH_2-O-R 2 $CH-O-R'$ 3 CH_2-O-R''	
Triglycéride ou triacylglycérol	

Pour indiquer la position, on désignera les atomes de carbone du glycérol par 1, 2, 3. La plupart des triglycérides sont hétérogènes, c'est-à-dire qu'il est exceptionnel que les trois hydroxyles du glycérol soient estérifiés par le même acide. On trouve le plus souvent deux ou trois acides gras. Il y a parfois des exceptions, comme l'huile de ricin…

Dans la nature, les mono- et diglycérides sont peu abondants ; ils représentent les intermédiaires de synthèse ou les produits de dégradation. La présence de trois acides gras différents sur un triglycéride conduit à de nombreuses isoméries. Les glycérides sont présents dans le tissu adipeux où ils peuvent représenter 90 % des lipides.

Les triglycérides

Les triglycérides sont fabriqués par le foie à partir des graisses alimentaires. Cependant, le plus souvent leur élévation anormale provient des sucres rapides (saccharose et fructose) et de l'alcool qui sont transformés en triglycérides par les hépatocytes.

Stockés dans les cellules adipeuses, les triglycérides sont une importante réserve d'énergie. Leur hydrolyse libère des acides gras dont le catabolisme sera source d'énergie.

Si l'excès de cholestérol est souvent évoqué dans la maladie cardio-vasculaire, il ne faut pas négliger le danger que peut présenter un taux anormalement élevé de triglycérides, c'est-à-dire plus de 1,5 g/L de sang. On parle d'**hypertriglycéridémie** au-delà de 2 g/L de sang.

Ce taux est très fluctuant et nécessite plusieurs dosages.

Une hypertriglycidémie a un pouvoir athérogène important augmentant les risques de maladies cardio-vasculaires. Elle peut être primitive ou secondaire à un diabète mal contrôlé, à une maladie rénale, hépatique, ou endocrinienne. L'hypertriglycéridémie peut être aussi d'origine iatrogène (œstroprogestatifs, diurétiques, par exemple) ou accompagner une obésité. Sur un plan diététique, la consommation d'acides gras oméga 3 fait baisser la triglycéridémie.

Les triglycérides et les lipoprotéines VLDL

Lipoprotéines de très basse densité, les VLDL sont secrétées par le foie de façon continue, et sont composées majoritairement de triglycérides. Cette synthèse des VLDL est à l'origine des triglycérides endogènes. Elle augmente en période postprandiale pour diminuer ensuite.

La dégradation des VLDL résulte d'une hydrolyse progressive sous l'action de la lipoprotéine lipase.

Elle libère les triglycérides dont l'hydrolyse alimente les tissus adipeux et musculaires en acides gras. Des molécules de triglycérides peuvent reformer des lipoprotéines plus petites, les IDL, ensuite transformées en LDL.

Propriétés physiques des glycérides

La **solubilité** dans l'eau est nulle. En revanche, ils sont solubles dans l'éther de pétrole, l'éther, le benzène, le chloroforme, l'acétone…

Le **point de fusion** n'est pas net (mélange de triglycérides). On définit une zone de fusion, dont la valeur est liée à la nature des acides gras constitutifs.

La grande similitude de structure entre les différents triglycérides peut rendre leur **séparation particulièrement délicate**. Les principales méthodes de fractionnement sont :

- la chromatographie sur colonne ou sur couche mince ;
- la précipitation fractionnée par l'acétone ;
- la distillation fractionnée sous pression réduite.

Propriétés chimiques des glycérides

Les glycérides possèdent une fonction chimique commune : la fonction ester carboxylique et éventuellement une ou plusieurs doubles liaisons. Leurs propriétés chimiques dépendront de ces deux fonctions chimiques.

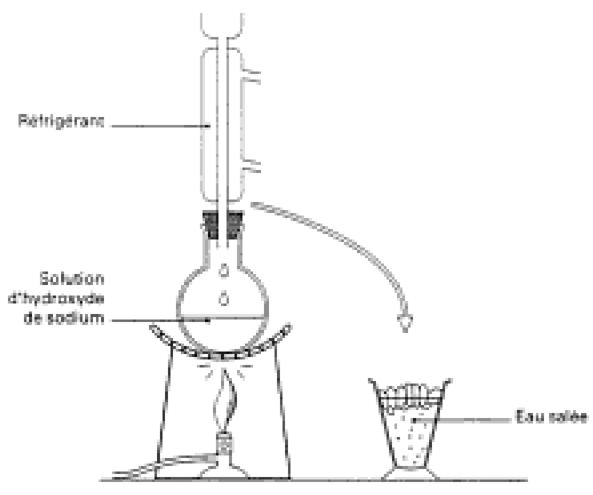
Propriétés dues à la fonction ester

Hydrolyse : cette réaction permet de couper la liaison ester menant aux acides gras et au glycérol. L'hydrolyse permet à l'organisme d'assimiler les acides gras et le glycérol.

Hydrolyse en milieu alcalin (saponification) : hydrolyse réalisée par la soude ou la potasse. La saponification sert à la préparation des sels alcalins des acides gras ou savons.

$$R—COOR' + KOH \longrightarrow RCOO^-K^+ + R'—OH$$

PRÉPARATION D'UN SAVON (SAPONIFICATION D'UN CORPS GRAS)



Une solution alcoolique de soude et d'huile est portée à reflux pendant 30 minutes au moins. La solution est ensuite versée dans une solution d'eau salée saturée. Cette opération porte le nom de « relargage ». Elle permet d'isoler le savon formé. En présence d'excès d'ions Na^+, le savon précipite.

Transestérification : l'acide gras est traité par le méthanol ou l'éthanol. Cette technique est utilisée pour séparer et identifier les acides gras. En agroalimentaire, cette technique est utilisée dans le traitement du beurre de cacao et des margarines. Le chocolat doit fondre dans la bouche : le triacylglycérol essentiel est le palmityl-1-oléyl-2-stéaryl-3-glycérol relativement saturé.

Propriétés dues aux doubles liaisons

Ces propriétés sont dues à la présence des doubles liaisons sur les acides gras. Il s'agit de réactions d'addition sur la double liaison : hydrogénation, siccativité, rancissement et indice d'iode (voir le paragraphe sur les propriétés chimiques des acides gras).

Propriétés émulsifiantes des glycérides

De par leur constitution chimique, un pôle hydrophile et un pôle hydrophobe, les glycérides sont utilisés comme émulsifiants en agroalimentaire et en pharmacie. Ce sont souvent des dérivés mono- ou diglycérides. On les ajoute aux graisses émulsifiables (de 1 à 5 %) parce qu'elles retiennent de l'eau et stabilisent les émulsions. Ces molécules limitent le rancissement en étant oxydées à la place de l'aliment. Elles sont ainsi utilisées comme antioxydant, par exemple la lécithine utilisée dans la margarine, le chocolat et l'industrie alimentaire en général.

C'est également la raison pour laquelle une mayonnaise doit toujours être réalisée à l'aide d'œufs récemment pondus. Les émulsifiants contenus dans le jaune (lécithine et stérides) n'ont pas eu le temps d'être hydrolysés et permettent la prise et le maintien de l'émulsion.



Expérience de la tache : une tache de goudron sur un linge peut être enlevée quand on utilise du beurre. La tache grasse disparaît par un lavage avec du savon. Les molécules de graisse sont emprisonnées dans des micelles, constituées de molécules de savon et sont alors dispersées dans l'eau.

Les cérides

Ce sont des esters d'acide et d'alcool de haut poids moléculaire qui se rencontrent chez les animaux (cire d'abeille, blanc de baleine, cire de laine) et les végétaux (enduits des feuilles de chou, de fruits). Ils ont jusqu'à 50 C formés par l'union d'acides gras et d'alcools à longues chaînes, par exemple le palmitate de cétyle (blanc de baleine).

$$CH_3—(CH_2)_{14}—CO—O—(CH_2)_{15}—CH_3$$

Leur rôle le plus important est celui de protecteur des tissus animaux ou végétaux par imperméabilisation.

Les cires sont souvent solides, mais l'une d'entre elles au moins est liquide : l'huile de jojoba. Elle est utilisée en cosmétologie : ses caractéristiques physico-chimiques lui permettent de remplacer le blanc de baleine.

Les cires sont des mélanges complexes qui, en plus des esters ci-dessus, renferment aussi des alcools et des acides libres et souvent un taux élevé d'hydrocarbures.

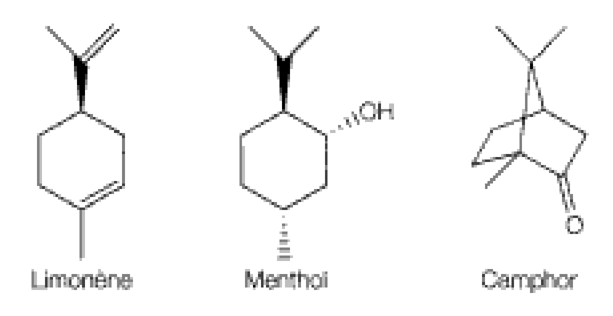
En pharmacie, on utilise la cire de carnauba pour le polissage des comprimés enrobés.

Les dérivés terpéniques

Tous ces dérivés résultent de la polycondensation d'unités d'isoprène en C5 (C_5H_8) :

$$CH_2{=}\underset{\displaystyle CH_3}{\underset{|}{C}}—CH{=}CH_2$$

Ces composés appartiennent à la famille des terpènes (huiles essentielles). Un grand nombre de terpènes a été isolé dans le règne végétal ou animal. Ils constituent des essences aromatiques [limonène (citron), menthol (menthe), camphor (camphre)], des vitamines liposolubles (A, E, K), les caroténoïdes.



La vitamine A, rétinal, est le précurseur du rétinal (fonction alcool du rétinol modifié en aldéhyde) groupement prosthétique de la rhodopsine. La rhodopsine, encore appelée « pourpre rétinien » est présent dans les cellules photosensibles de la rétine.

OH

Vitamine A

La vitamine E (α-tocophérol), antioxydante, sert de piège pour les radicaux libres.

HO 6 O 3

α-tocophérol (vitamine E)

La vitamine K joue un rôle dans la coagulation du sang.

O O 3

Naphtoquinone Phytyle

Vitamine K_1

Les caroténoïdes sont présents dans les carottes et précurseurs de la vitamine A.

β-carotène

Les stérides

Les stérides sont des esters d'acides gras et d'alcools à poids moléculaire élevé : les stérols. Les stérols sont apparentés à une famille biologique assez homogène : les stéroïdes. Dans ce groupe, on rencontre les acides biliaires, les hormones sexuelles et corticosurrénales, les vitamines D, les aglycones des hétérosides cardiotoniques.

Cholestérol

Isolé dès la fin du XVIII[e] siècle à partir des calculs biliaires, le cholestérol est indispensable au bon fonctionnement de l'organisme. Chimiquement, il s'agit d'un alcool polycyclique. Dans les milieux biologiques, il existe à l'état libre et estérifié.

Cholestérol

CH_3 CH_2 CH_2 CH_3 CH CH_2 CH CH_3 CH_3 CH_3 HO

Origine

La majeure partie du cholestérol est synthétisée par l'organisme. On l'appelle **cholestérol endogène**. Le foie et les glandes endocrines sécrétrices d'hormones stéroïdes sont les plus gros producteurs de l'organisme. Les cellules pariétales du tube digestif participent également à la synthèse du cholestérol endogène. La synthèse endogène du cholestérol s'effectue à partir de l'acétyl CoA. Cette synthèse augmente lorsque l'apport alimentaire du cholestérol diminue ; elle diminue dans le cas inverse.

Le cholestérol exogène est apporté par l'alimentation. Les abats (par exemple, le foie), les rognons, les ris, la cervelle, les fruits de mer, le beurre (255 mg/100 g) et le jaune d'œuf (250 mg/100 g) en sont riches.

Localisation

Le cholestérol est présent dans la plupart des tissus des vertébrés : le tissu nerveux, surtout dans la substance blanche, mais aussi dans le rein, la peau, le foie, les hématies, les muscles, les intestins, le cœur.

Rôle du cholestérol

Le cholestérol est le composant fondamental des membranes cellulaires auxquelles il confère imperméabilité et rigidité. Il s'intercale entre les phospholipides membranaires.

C'est aussi le précurseur de nombreuses hormones : hormones sexuelles et surrénaliennes (cortisol, aldostérone). Son catabolisme permet également la synthèse des acides et sels biliaires. Enfin, il est à l'origine de la synthèse de la vitamine D par irradiation solaire.

Danger d'une hypercholestérolémie

On parle d'**hypercholestérolémie** à partir de 6,5 millimoles par litre de sang, soit 2,5 g/L.

Lorsque le sang contient trop de cholestérol, l'excédent se dépose sur la paroi artérielle, formant des plaques d'athérome. Ces dépôts s'imprègnent progressivement de fibrinogène, de plaquettes, de cellules sanguines, de calcium, et se solidifient. Cette pathologie, nommée **athérosclérose**, peut toucher les artères coronaires, favorisant ainsi leur rétrécissement. En réduisant le débit sanguin, l'athérosclérose provoque l'apparition de maladies cardio-vasculaires (hypertension artérielle, infarctus du myocarde, accident vasculaire cérébral).

Les lipoprotéines
Le plasma est un milieu hydrophile. Le cholestérol (libre ou estérifié à un acide gras), lipophile, ne peut y circuler qu'associé à des transporteurs, sous forme de micelles. Ces transporteurs sont des complexes macromoléculaires : les lipoprotéines. Il existe plusieurs types de lipoprotéines, classés selon leur densité.
Le taux plasmatique de deux d'entre elles renseigne sur l'état cardio-vasculaire de la personne concernée. Les valeurs à respecter dépendent des autres risques de maladie thromboemboliques auxquels est exposé le patient.

• Les lipoprotéines de basse densité (LDL)
Les molécules de LDL sont formées principalement de cholestérol. Elles transportent le cholestérol du foie aux autres parties de l'organisme dont les adipocytes. Le cholestérol transporté par les lipoprotéines LDL est qualifié de « mauvais cholestérol » car il peut participer à la formation de plaques d'athérome dans la paroi des artères. Les LDL oxydées sont particulièrement athérogènes.

Profil du patient	Valeur seuil de LDL cholestérol à ne pas dépasser (g/L)
Aucun facteur de risque	2,20
Un facteur de risque	1,9
Deux facteurs de risque	1,6
Trois facteurs de risque	1,3
Quatre facteurs de risque	1,0

• Les lipoprotéines de haute densité (HDL)
Les molécules de HDL acheminent l'excès de cholestérol de l'organisme vers le foie, où il sera ensuite dégradé. Le cholestérol transporté par les lipoprotéines HDL est qualifié de « bon cholestérol » car il nettoie les tissus extrahépatiques, en particulier les artères, d'une partie des dépôts lipidiques de mauvaise qualité, diminuant ainsi le risque d'apparition d'athérosclérose.
Une HDL cholestérolémie normale est supérieure à 0,4 g/L.
L'ensemble HDL cholestérol et LDL cholestérol forme le cholestérol total.

Les corps gras en diététique
Les graisses d'origine animale contiennent surtout des acides gras saturés et sont riches en cholestérol. Une étude épidémiologique a montré que la cholestérolémie était en Finlande la plus élevée d'Europe, alors qu'en Grèce, elle était la plus basse, cela pour un même apport lipidique, 37 % de l'apport énergétique total. Cet écart provient des habitudes alimentaires. Dans les pays méditerranéens, l'huile d'olive, qui contient 68 % d'acide gras mono-insaturés, est fortement consommée. Il a été démontré que les acides gras insaturés, majoritaires dans les graisses d'origine végétale, protègent des maladies cardio-vasculaires. Ils abaissent la cholestérolémie. Les acides gras saturés, quant à eux, favorisent l'agrégabilité plaquettaire provoquant ainsi la formation de thrombus à l'origine des accidents coronariens. C'est pourquoi est préconisé aujourd'hui dans l'alimentation un apport lipidique riche en acides gras insaturés (huile d'olive, etc.).

Acides biliaires
La bile est un milieu complexe renfermant à l'état de solution ou de dispersion aqueuse des protéines, des acides gras estérifiés ou salifiés, des phospholipides, du cholestérol et des pigments (bilirubine, biliverdine). À côté de ces constituants, se trouvent en proportion importante des sels d'acides biliaires : 10 g environ dans la bile hépatique, 100 g dans la bile vésiculaire.
Les quatre acides biliaires sont formés à partir du cholestérol. Deux acides biliaires sont synthétisés par le foie : l'acide cholique et l'acide chénodésoxycholique. Les deux autres acides biliaires dérivent de ces deux composés par réduction grâce à des enzymes de la flore intestinale.
Leur rôle est de :
• maintenir en solution les graisses et le cholestérol biliaires. Les sels biliaires facilitent ainsi la résorption des graisses au niveau du duodénum ;
• faciliter la résorption du calcium et des vitamines liposolubles, au niveau de l'intestin ;
• présenter des propriétés antiseptiques mises à profit *in vitro* par les bactériologistes.
Les acides biliaires interviennent dans la demi-vie des principes actifs lorsque ces derniers subissent le cycle entéro-hépatique. Leur présence dans l'organisme en est alors augmentée (voir dans la même collection *Pharmacologie générale et toxicologie : mécanismes fondamentaux*).

Vitamine D
Encore nommée « calciférol », « vitamine D2 » ou « vitamine antirachitique », elle est obtenue par l'irradiation de l'ergostérol. Cette réaction a lieu dans la peau lors de son exposition au soleil. Elle possède un rôle essentiel dans la fixation du calcium et le contrôle du métabolisme phosphocalcique. Sa carence, associée au déséquilibre phosphocalcique, contribue au développement du rachitisme.
L'hypervitaminose D provoque de la diarrhée, de l'amaigrissement et un excès d'ossification. L'huile de foie de morue est riche en vitamine D.
Une insuffisance rénale peut mener à une carence en vitamine D, cette dernière étant activée au niveau rénal.

Hormones stéroïdes
Elles regroupent plusieurs familles de composés :
• les hormones sexuelles : œstrogènes, androgènes, progestérone ;

• les hormones corticosurrénaliennes : aldostérone (régulation de l'équilibre hydro-électrolytique, de la volémie et de la pression sanguine), glucocorticoïdes (rôle anti-inflammatoire, lutte contre le stress).
Toutes ces hormones sont indispensables au bon fonctionnement de l'organisme.

3 LES LIPIDES COMPLEXES OU HÉTÉROLIPIDES

Les lipides complexes ou hétérolipides sont des lipides contenant, outre du C, H et O, du P et/ou de l'N et/ou du S.

LES GLYCÉROPHOSPHOLIPIDES : LIPIDES PHOSPHORÉS

Ils renferment du glycérol et de l'acide orthophosphorique unis sous forme d'acide glycérophosphorique. Dans les composés naturels, c'est toujours l'acide glycéro-3-phosphorique que l'on rencontre.
Les glycérophosphatides naturels peuvent être classés en quatre groupes principaux (voir tableau p. 20) :

• acides phosphatidiques ;
• phosphatidylcholines (lécithines) ;
• céphalines :
– phosphatidyléthanolamines ;
– phosphatidylsérines ;
• phosphatidylinositols (inositol triphosphate : second messager intracellulaire).

Les glycérophospholipides ont des propriétés émulsifiantes et antioxydantes : le pôle hydrophile de la molécule s'hydrate, gonfle dans l'eau et favorise le foisonnement et l'émulsification. Les applications sont nombreuses :

• fabrication des mayonnaises avec les lécithines des œufs ;
• addition de lécithine de soja aux margarines et au chocolat comme agent de texture ;
• riches en acide linoléique, les lipides du soja sont des antioxydants (E322).

Constituants des lipoprotéines (les lécithines et phospholipides), les glycérophospholipides participent à la construction des membranes biologiques (bicouches phospholipidiques). On les retrouve dans les lipides de réserve de l'œuf et dans la forme de transport des lipides du plasma (HDL et LDL).

LES SPHINGOLIPIDES : LIPIDES AZOTÉS

Ce groupe diffère des glycérophosphatides par le remplacement du glycérol par la sphingosine (amino-glycol éthylénique en C18) :

$$CH_3-(CH_2)_{12}-CH=CH-CH(OH)-CH(NH_2)-CH_2OH$$

La sphingosine est liée à un acide gras par sa fonction amine formant un **céramide**. La liaison est donc une fonction amide et non une fonction ester comme dans les glycérides, les stérides ou les phosphatides. L'acide gras peut être à longue chaîne, ayant ou non une fonction hydroxyle sur le carbone 2. Les sphingolipides sont des constituants membranaires importants, en particulier de la gaine de myéline des nerfs :

• cérébrosides (oses : galactose, glucose) ;
• sphingomyélines (possèdent N et P ; choline) : dans les membranes cellulaires, plasmiques ;
• gangliosides (galactose, glucose, N-acétylosamine) : le cerveau en est riche ;
• sulfatides (galactose).

La détermination du rapport lécithine/sphingomyéline du liquide amniotique permet d'apprécier la maturité pulmonaire du fœtus et les risques de détresse pulmonaire (maladie des membranes hyalines).



4 MÉTHODES DE PRÉPARATION ET D'ANALYSE DES LIPIDES

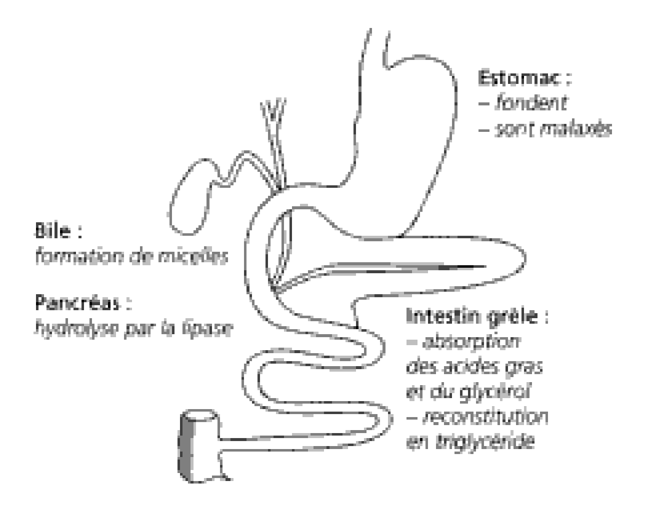
Ce sujet est traité dans le *chapitre* « Méthode d'étude et d'analyse des biomolécules ».
Un *tableau* y réunit les différentes techniques utilisées pour les lipides.

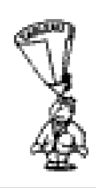


5 SORT DES LIPIDES DANS LE TUBE DIGESTIF

Dans l'organisme, le rôle de la digestion est de rendre assimilables les différents nutriments. Certaines enzymes, les **lipases**, ont pour but d'hydrolyser les glycérides pour libérer les acides gras et le glycérol. Chaque molécule sera assimilée séparément par l'organisme par les chylifères des villosités intestinales. Le triglycéride se reformera après dans l'organisme pour être transporté vers son lieu d'utilisation ou de stockage.

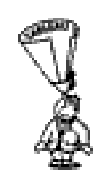
SORT DES LIPIDES DANS LE TUBE DIGESTIF





QUELQUES ACIDES GRAS IMPORTANTS POUR L'ORGANISME

Nom	Formule	Indice d'iode	Rôle dans l'organisme	Sources alimentaires
Acide oléique C18 : 1 ω-9	$CH_3—(CH_2)_7—CH═CH—(CH_2)_7—COOH$	89,87	53 % du tissu adipeux	Huile d'olive, toutes les huiles comestibles
Acide palmitique C16 : 0	$CH_3—(CH_2)_{14}—COOH$			Huile de palme
Acide arachidonique C20 : 4 ω-6	$CH_3—(CH_2)_4—CH═CH—CH_2—CH═CH—CH_2—CH═CH—CH_2—CH═CH—(CH_2)_3—COOH$	333,52	Précurseur des prostaglandines, des leucotriènes, thromboxane et prostacyclines	Exclusivement dans les produits animaux : viande de bœuf, œuf, hareng, poulet
Acide linoléique C18 : 2 ω-6	$CH_3—(CH_2)_4—CH═CH—CH_2—CH═CH—(CH_2)_7—COOH$	181,04	Constituant des phospholipides	Huile de lin, de tournesol, de maïs, de soja, de pépins de raisin. Blé, noix



TABLEAUX RÉCAPITULATIFS DES PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES DES TRIGLYCÉRIDES SELON LEUR COMPOSITION EN ACIDES GRAS SATURÉS ET/OU INSATURÉS

Propriétés physiques		
	Esters d'acides gras saturés	Esters d'acides gras insaturés
Solubilité	Insoluble dans l'eau Soluble dans les solvants organiques	
Densité	Inférieure à 1 (d < 1)	
Point de fusion	Supérieur pour une même longueur de chaîne	Inférieur pour une même longueur de chaîne
Point d'ébullition	Augmente avec la longueur de la chaîne carbonée. Peu d'influence de la présence ou non de double liaison	

Propriétés chimiques		
	Esters d'acides gras saturés	Esters d'acides gras insaturés
• **Dues à la présence de doubles liaisons :** – réaction d'addition d'hydrogène – réaction d'addition d'oxygène – réaction d'addition d'halogènes		Hydrogénation catalytique Rancissement Siccativité Indice d'iode
• **Dues à la présence de la fonction ester carboxylique :**	Transestérification Hydrolyse Saponification (hydrolyse alcaline)	

Test de connaissances

Pour répondre à ce questionnaire, les apprenants se référeront au cours.

1. Quels sont les rôles des lipides dans l'organisme humain ? Développer votre réponse.

2. Quelles sont les propriétés physiques des acides gras ? Développer.

3. Indiquer la différence entre un acide gras saturé et un acide gras de même nombre de carbone, insaturé. Comment peut-on passer de l'insaturé au saturé ? Quelles sont les différences dans leurs propriétés physiques ?

4. Définir le rancissement.

5. Définir la siccativité.

6. Définir l'indice d'iode. Que permet-il de vérifier ?

7. Définir et donner un exemple d'un lipide simple.

8. Définir et donner un exemple d'un lipide complexe.

9. Qu'est-ce qu'un glycéride ?

10. Qu'est-ce qu'un céride ?

11. Qu'est-ce que la lécithine ? Donner un exemple d'aliment en contenant. Pour quelle propriété est-elle utilisée en agroalimentaire ?

12. Que sont les sphingolipides ?

13. Définir et citer deux stérides.

14. Le cholestérol : définir et indiquer ses rôles dans l'organisme humain.

Exercices

1. Soit les acides gras suivants :
- acide palmitique C16 : 0
- acide palmitoléique C16 : 1

Lequel de ces deux acides gras a le point de fusion le plus bas ?

2. Soit les acides gras suivants :
- acide laurique C12 : 0
- acide stéarique C18 : 0
- acide oléique C18 : 1ω9

Écrire leur formule brute et leur formule semi-développée.
Calculer leur masse molaire moléculaire
C = 12 g/mol ; H = 1 g/mol ; O = 16 g/mol.

3. Soit l'acide linoléique de formule semi-développée :
$CH_3—(CH_2)_4—CH{=}CH—CH_2—CH{=}CH—(CH_2)_7—COOH$
On fait passer sur cet acide un courant d'hydrogène H_2. Nommer cette réaction.
Écrire et équilibrer l'équation de la réaction.
À quelle famille appartient l'acide gras obtenu ?
Comparer le point de fusion de l'acide gras obtenu avec celui de l'acide linoléique.

4. Soit ces trois acides gras :
- acide arachidique C20 : 0
- acide dihomo-γ-linolénique C20 : 3(ω–6)
- acide arachidonique C20 : 4(ω–6)

Quelle est la différence de structure chimique entre ces trois acides gras ?
Indiquer les différences auxquelles on peut s'attendre sur leurs propriétés physico-chimiques.
Écrire la molécule d'acide arachidonique en formule semi-développée. Calculer sa formule brute et son poids moléculaire.

5. Soit l'acide linolénique C18 : 3, de formule brute $C_{18}H_{30}O_2$.
Calculer son indice d'iode.
Quel est l'intérêt de ce calcul ?
C = 12 g/mol ; H = 1 g/mol ; O = 16 g/mol ; I = 127 g/mol.

6. Vous recevez à la pharmacie un bidon d'huile d'olive.
Vous effectuez le test permettant de connaître l'indice d'iode de l'huile reçue. Vous obtenez I = 75.
D'après la pharmacopée, l'indice d'iode de l'huile d'olive est : I = 82.
Quelle signification donner à cette différence de résultat ?

7. On estérifie le glycérol $CH_2OH—CHOH—CH_2OH$ avec trois molécules d'acide stéarique : $C_{17}H_{35}COOH$. On obtient de la tristéarine ou cire de bougie.
Écrire et équilibrer l'équation de la réaction.
Quelle masse de cire de bougie peut-on obtenir à partir de 1 kg de glycérol ?
C = 12 g/mol ; H = 1 g/mol ; O = 16 g/mol.

8. On fait réagir sur le 1-stéaryl-2-palmityl-3-oléylglycérol :
- de l'eau ;
- de l'hydroxyde de sodium Na^+OH^-.

Pour chacune de ces deux réactions :
- indiquer son nom et ses caractéristiques ;
- écrire et équilibrer l'équation de la réaction en nommant les produits obtenus.

Acide stéarique : $C_{18}H_{36}O_2$; acide palmitique : $C_{16}H_{32}O_2$; acide oléique : $C_{18}H_{34}O_2$.

9. Écrire l'équation de saponification de la tripalmitine.
La tripalmitine est le triester du glycérol et de l'acide palmitique : $C_{15}H_{31}COOH$.

10. Même exercice avec le trioléylglycérol ou trioléine.
Acide oléique : $C_{17}H_{33}COOH$.

11. Soit un lipide du tissu nerveux, ses trois composants sont identifiés de la manière suivante :
- l'un est un alcool aminé possédant 18 carbones ;
- le deuxième est soluble dans le benzène et insoluble dans l'eau, il réagit avec l'hydroxyde de sodium NaOH en donnant un composé soluble dans l'eau ;
- le troisième est actif sur la lumière polarisée et réduit la liqueur de Fehling.

Indiquer la nature de chaque composant.
À quelle famille appartient ce lipide ?

12. On dispose de 28,5 g d'un corps gras. Ce corps gras est un triglycéride dont les trois acides gras saturés sont identiques. On saponifie ce corps gras avec une solution d'hydroxyde de sodium NaOH.

Écrire l'équation globale de la réaction.
Donner la formule semi-développée du triglycéride de départ, sachant que sa masse molaire est de 891 g/mol.
Quelle est la masse de savon obtenue ?
C = 12 g/mol ; O = 16 g/mol ; H = 1 g/mol ; Na = 23 g/mol.

13. Le trilinolénate de glycéryle est un triglycéride obtenu par estérification d'une molécule de glycérol par trois molécules d'acide linolénique : $C_{17}H_{29}COOH$.
Écrire la formule du trilinolénate de glycéryle et calculer sa masse molaire.
Combien de molécules d'iode peuvent se fixer sur une molécule de trilinolénate de glycéryle ?
En déduire son indice d'iode.

14. Parmi les propositions suivantes, cocher la réponse exacte.
Les acides gras :

- **a.** sont solubles dans l'eau ;
- **b.** comportent un nombre pair d'atomes de carbone inférieur à quatre ;
- **c.** ont une température de fusion qui augmente avec le nombre de doubles liaisons ;
- **d.** ont une température de fusion qui augmente avec la longueur de la chaîne carbonée ;
- **e.** les acides gras « essentiels » sont des acides gras saturés.

15. Parmi les propositions suivantes, cocher la réponse exacte.
Les glycérides :

- **a.** sont obtenus par saponification du glycérol avec des acides gras ;
- **b.** sont insolubles dans l'acétone ;
- **c.** sont hydrolysés dans l'organisme en éthanol et acides gras ;
- **d.** fournissent par saponification des sels alcalins d'acides gras ou savons ;
- **e.** libèrent des composés polyinsaturés par hydrogénation catalytique.

16. Parmi les propositions suivantes, cocher la réponse exacte.
La vitamine D est synthétisée par biotransformation :

- **a.** de l'aldostérone ;
- **b.** des hormones sexuelles ;
- **c.** des triglycérides ;
- **d.** du glycérol ;
- **e.** du cholestérol.

LES GLUCIDES



INTRODUCTION

DÉFINITION

Les glucides forment un groupe de composés très importants. Ils peuvent être définis comme des composés organiques comportant des fonctions carbonylées (aldéhyde ou cétone) et des fonctions alcools.
Les glucides sont apportés par les végétaux qui les élaborent par la voie de la photosynthèse (à partir de CO_2 et H_2O présents dans l'atmosphère, grâce à l'énergie apportée par la lumière solaire et captée par un pigment vert : la chlorophylle).

FONCTIONS DES GLUCIDES DANS L'ORGANISME

Très répandus chez les êtres vivants, les glucides y sont rencontrés :

• comme **réserves énergétiques** :
– soit immédiatement utilisables : glucose. Les formes libres, solubles, des glucides sont des formes circulantes transitoires (glucose sanguin) ;
– soit sous forme de réserve : amidon, glycogène (glucose stocké dans le foie sous forme de glycogène). En cas de jeûne glucidique, divers précurseurs, comme les acides aminés, sont convertis en glucose par la néoglucogenèse. En cas d'apports excessifs, l'organisme transforme le glucose en triglycérides déposés dans les tissus adipeux ;

• comme **éléments de soutien** : dans le tissu conjonctif des animaux supérieurs. Ils participent à la structure des végétaux (cellulose) et des arthropodes (chitine). La chitine est le principal constituant de l'exosquelette dur des arthropodes. Elle représente le deuxième polysaccharide par son abondance dans la nature ;

• comme **constituants de métabolites** variés et indispensables (nucléosides, acides nucléiques, coenzymes) : ils possèdent un rôle biologique important.

IMPORTANCE ÉCONOMIQUE

Outre ses diverses fonctions dans l'organisme humain, les glucides ont un rôle économique important. Ils sont présents dans : le bois avec la cellulose (industrie du papier), l'amidon, le saccharose (industrie agroalimentaire), le textile naturel (coton) ou artificiel (rayonne, viscose), les matières plastiques (Celluloïd, Rhodoïd), certains explosifs, les adhésifs, etc.

DÉNOMINATIONS

Les termes « sucre » et « **hydrate de carbone** » se rencontrent encore dans certains ouvrages. L'expression « hydrate de carbone » provient du XIXe siècle, quand les chimistes établirent que les glucides correspondaient à la formule générale $Cn(H_2O)n$. Mais pour deux raisons, cette dénomination est obsolète : l'H et l'O ne s'y trouvent absolument pas sous cette forme et tous les glucides ne répondent pas à cette formule. Le terme « glucide » semble donc préférable.
Du point de vue chimique, on peut définir les glucides comme étant des **polyhydroxyaldéhydes** ou des **polyhydroxycétones**. Ce sont aussi des molécules qui en dérivent ou encore des polymères susceptibles de libérer ces mêmes composés par hydrolyse.
On distinguera ainsi :

• les **oses** ou **sucres simples** ou **monosaccharides** : unités de base non hydrolysables ;

• les **osides**, dont l'hydrolyse livre plusieurs oses. Ils résultent de la condensation de molécules d'oses et éventuellement aussi de substances non glycosidiques.

2 LES OSES

Définition : les oses ou sucres simples (ou monosaccharides) sont des molécules comportant à la fois plusieurs fonctions alcools (sur tous les carbones sauf un) et une fonction réductrice aldéhyde ou cétone. Ils ont entre trois et huit atomes de C. Ce sont les unités structurales entrant dans la composition des glucides plus complexes, les osides.

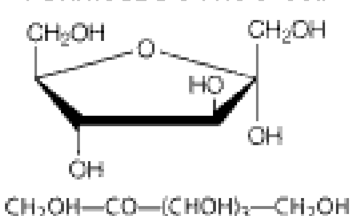
La classification des oses repose sur :

• le nombre d'atomes de carbone : de trois à huit C (les plus fréquents : pentose, hexose) ;

• la nature de la fonction réductrice : selon qu'ils comportent une fonction aldéhyde (aldose) ou cétone (cétose).

Si l'on veut indiquer à la fois la présence de la fonction carbonylée et le nombre d'atomes de carbone, on dira, par exemple : aldopentose, cétopentose, aldohexose, cétohexose...
Le *tableau* ci-après regroupe les principaux glucides utilisés en biochimie.
Le fructose est le sucre contenu dans les fruits comme son nom l'indique. Il est associé au glucose dans la molécule de saccharose que nous décrirons plus loin. À la différence de la majorité des sucres fréquemment rencontrés en biochimie, le fructose possède une fonction cétone.

FORMULE DU FRUCTOSE



$CH_2OH—CO—(CHOH)_3—CH_2OH$

Sucre	Hexose	Pentose	Aldose	Cétose	Classification
Glucose	Oui		Oui		Aldohexose
Galactose	Oui		Oui		Aldohexose
Mannose	Oui		Oui		Aldohexose
Fructose/lévulose	Oui			Oui	Cétohexose
Ribose		Oui	Oui		Aldopentose
Désoxyribose		Oui	Oui		Aldopentose

Le glucose est l'ose le plus abondant dans la nature. Son rôle très important dans l'organisme humain explique que nous utiliserons le glucose pour montrer les diverses propriétés physico-chimiques des oses.

STRUCTURES DU GLUCOSE

Composé très important dans la nature, le glucose est le « sucre des fruits » et du miel.

Structure linéaire du glucose

Le glucose, de formule brute $C_6H_{12}O_6$, a pour formule semi-développée :

$$CH_2OH—(CHOH)_4—CHO$$

Il comporte quatre carbones asymétriques donc 2^4, c'est-à-dire 16 stéréo-isomères représentés selon la projection de Fisher (*cf.* ci-dessous).

Parmi ces seize stéréo-isomères, le glucose naturel correspond à l'isomère C. Mannose et galactose font partie des stéréo-isomères du glucose : le mannose correspond à l'isomère D, et le galactose correspond à l'isomère G. Si nous observons les formules linéaires du glucose, du mannose, du galactose, nous remarquons que mannose et galactose ne se différencient chacun du glucose que par la position droite ou gauche d'un seul hydroxyle, c'est-à-dire la configuration d'un seul carbone asymétrique. On dit que mannose (D) et galactose (G) sont successivement des épimères en C2 et C4 du glucose.

La présence de carbones asymétriques dans la molécule entraîne une propriété physique particulière : l'**isomérie optique**. On distingue deux isomères optiques qui dévient chacun la lumière polarisée dans un sens opposé. L'isomère dit « (+)dextrogyre » dévie la lumière polarisée vers la droite, l'isomère dit « (–)lévogyre » vers la gauche. Cela correspond au pouvoir rotatoire de la molécule. Le glucose naturel est dextrogyre. Le fructose, lévogyre, est encore nommé lévulose. La **dénomination D et L** des glucides n'a rien à voir avec le pouvoir rotatoire.

C'est juste une façon d'écrire le sucre dans la représentation de Fisher. Feront partie de la série D tous les sucres dont l'avant-dernier carbone s'écrira avec la fonction hydroxyle à droite de la chaîne carbonée. La série L correspond aux sucres dont l'avant-dernier carbone s'écrira avec la fonction hydroxyle à gauche de la chaîne carbonée (*cf.* tableau ci-dessous). Les sucres les plus abondants dans la nature appartiennent à la série D. Le glucose naturel est le **D(+)glucose**.

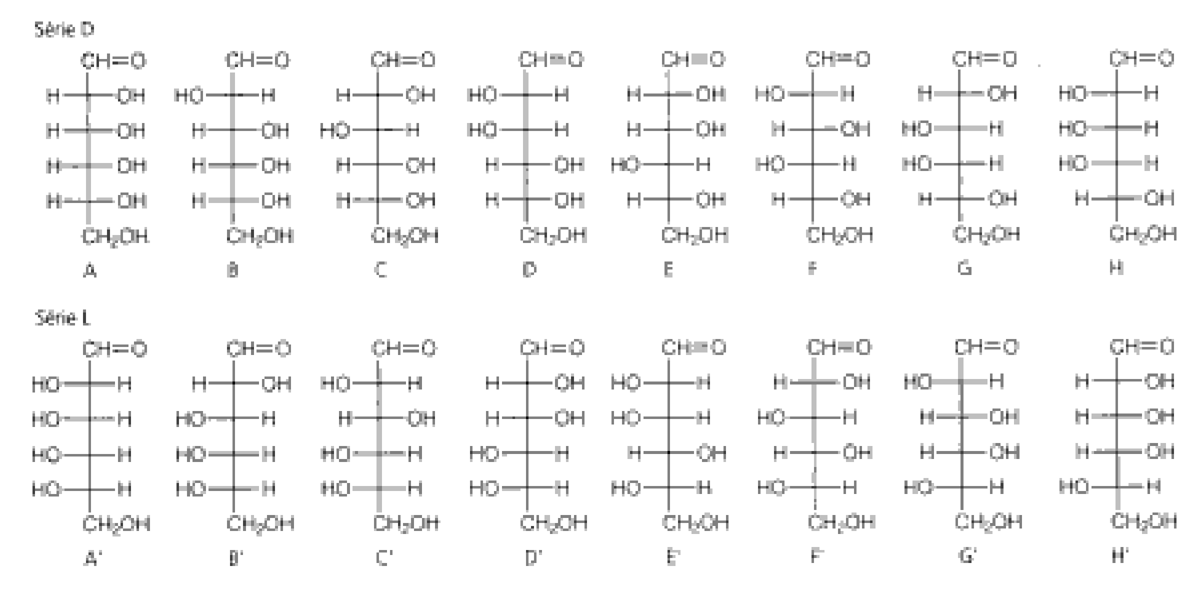
Structure cyclique du glucose et réactivité chimique

Structure cyclique

Quand un aldéhyde est traité par le méthanol, en milieu acide, deux molécules de méthanol réagissent avec une molécule d'aldéhyde pour former un acétal :

$$R—CHO + 2\ CH_3—OH \longrightarrow R—CH(OCH_3)_2 + H_2O$$

REPRÉSENTATION DE FISHER DES 16 STÉRÉO-ISOMÈRES DU GLUCOSE



Mais avec le D-glucose, l'ose ne se combine qu'avec une seule molécule de méthanol en donnant deux isomères de méthyl-glucoside (α et β). Il faut donc envisager une autre structure non linéaire du glucose portant la fonction réductrice sur un carbone asymétrique. Seule une structure cyclique répond à ces exigences : le carbone 1 (C1) est lié à l'avant dernier carbone (le cinquième pour le glucose) par l'intermédiaire d'un atome d'oxygène. Une telle liaison porte le nom de **pont oxydique**. Cette cyclisation se fait facilement, car ces deux groupements sont proches l'un de l'autre dans l'espace. Le C1 devient alors un carbone asymétrique. On le nomme **carbone anomère**. Il est porteur de la fonction hémiacétalique. Deux isomères se forment lors de la cyclisation ne différant que par la configuration de ce carbone. Nommées **formes anomères**, on les désigne par α et β.

CYCLISATION EN C5 DU GLUCOSE

Forme aldéhyde ⇌ Forme hémiacétalique

Cette cyclisation peut concerner le C5 ou le C4. Deux cycles peuvent se former, à cinq ou six atomes dans le cycle (*cf.* schéma suivant) :

- pyrane, d'où le nom de « forme **pyranose** » donnée à la structure cyclique à six côtés, formée de six atomes dont cinq de carbone et un d'oxygène ;
- furane, d'où le nom de « forme **furanose** » donnée à cette structure cyclique à cinq côtés, formée de cinq atomes dont quatre de carbone et un d'oxygène.

Pour ces deux formes cycliques, la représentation de Fischer est souvent abandonnée au profit d'une représentation plus proche de la réalité, la représentation de Haworth : le cycle est supposé plan.

FORMES α ET β DU GLUCOPYRANOSE ET L'α-D-GLUCOFURANOSE

α-D-glucopyranose β-D-glucopyranose

α-D-glucofuranose

La forme pyranose a une géométrie très voisine de celle du cyclohexane, la conformation la plus stable est également la forme chaise. Ceci permet aussi de justifier que la forme β est plus stable que la forme α.

Le **β-D-(+)-glucopyranose** est ainsi la forme majoritairement rencontrée dans la nature.

FORME CHAISE DU β-D-(+)-GLUCOPYRANOSE

Réactivité chimique

L'équilibre est en faveur des formes cycliques (95 %). Mais, en présence d'un réactif de la fonction aldéhydique, l'équilibre est vite déplacé vers la forme linéaire, révélant alors la fonction réductrice.

En revanche, pour les réactions des fonctions alcools, on obtient davantage des dérivés de la forme cyclique. *Exemple* : la glucuroconjugaison dans le métabolisme, qui est une bonne façon d'éliminer des produits dans les urines.

PROPRIÉTÉS CHIMIQUES

Oxydation

Oxydation par la liqueur de Fehling

Le glucose réduit les sels métalliques (en solution alcaline) jusqu'au stade métal ou jusqu'au degré d'oxydation inférieur. Cette propriété est utilisée pour détecter la présence de sucre dans un milieu et en doser la quantité présente. Pour ce faire, il faut que le sucre se trouve sous forme linéaire, c'est-à-dire que sa fonction réductrice soit accessible. La liqueur de Fehling (sel cuivrique Cu^{2+} maintenu en solution grâce à un tartrate double de Na et de K), de couleur bleu foncé, est utilisée comme réactif. En présence de réducteur, il y a décoloration du milieu puis apparition d'un précipité rouge brique de Cu_2O.

$$\text{Sucre réducteur R—CHO} + 2\,Cu^{2+} \longrightarrow \text{sucre oxydé R—COOH} + 2\,Cu^{+}$$

En milieu alcalin, on obtient :

$$2\,Cu^{+} + 2\,OH^{-} \longrightarrow 2\,CuOH \longrightarrow Cu_2O + H_2O$$

En mesurant la quantité d'agent oxydant produite, on peut en déduire la quantité de sucre contenue dans la solution. Cette méthode était utilisée pour doser le sucre dans le sang et les urines des patients diabétiques. Aujourd'hui, des méthodes plus précises utilisent une enzyme, la glucose oxydase, qui permet d'oxyder le sucre par l'eau oxygénée. L'eau oxygénée réagit ensuite avec certains colorants pour donner une modification de couleur facilement détectable.

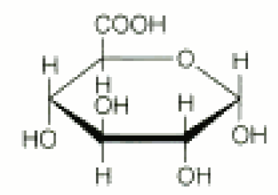


Un procédé identique permet de réargenter les couverts, les plats, les bijoux. Le nitrate d'argent ammoniacal, en présence de réducteur, permet la formation d'un dépôt d'Ag sur les parois des objets déposés dans le milieu réactionnel.

Oxydation métabolique

Dans l'organisme, le glucose est métabolisé en acide glucuronique utilisé dans de la phase pharmacocinétique de l'élimination. La glucuroconjugaison permet d'éliminer dans les urines des produits peu solubles dans l'eau.

FORMULE DE L'ACIDE GLUCURONIQUE



acide glucuronique

Formation d'esters

Les esters phosphoriques des oses ont une très grande importance dans le métabolisme des glucides. Le plus souvent, c'est la fonction alcool primaire qui est estérifiée : exemple du glucose-6-phosphate (rôle dans le métabolisme énergétique). Cette réaction chimique a lieu avec la forme linéaire ou cyclique du glucose.

Hydrogénation

La réduction de la fonction aldéhyde du glucose mène à un polyol très connu : le D-sorbitol. Son action laxative s'explique par la présence de nombreuses fonctions alcools : il peut former des liaisons hydrogènes avec l'eau. Cela augmente la teneur en eau des intestins et facilite leur fonctionnement. Il en est de même pour tous les laxatifs osmotiques.

Sorbitol : $CH_2OH—(CHOH)_4—CH_2OH$

Le sorbitol, ou glucitol, peut également être obtenu à partir du fructose. Il existe à l'état naturel dans certains fruits (pêches, poires, pruneaux, cerises).
Peu sucré, et toujours pour son pouvoir absorbant de l'eau, on l'utilise en confiserie pour empêcher la cristallisation du saccharose et du glucose. Son métabolisme, indépendant de l'insuline, permet de l'incorporer dans les produits diététiques pour diabétiques.

Fermentation

Une solution de glucose abandonnée à l'air subit une réaction de fermentation. Elle est provoquée par le développement de levures produisant une enzyme (la zymase). Cela aboutit à la formation d'alcool éthylique et d'anhydride carbonique.

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2\ CH_3CH_2OH + 2\ CO_2$$

Historiquement, cela fut longtemps le procédé de préparation de l'éthanol. Aujourd'hui, l'éthanol est préparé industriellement par hydratation de l'éthylène. Mais la fermentation du glucose est encore utilisée pour la préparation des biocarburants.

LA FERMENTATION EST UTILISÉE DANS LA PRÉPARATION DE BOISSONS ALCOOLISÉES !



À partir de	Alcool obtenu
Raisin	Vin
Pomme de terre ou grains (seigle, orge...)	Vodka et schnaps
Riz	Saké
Orge	Bière
Agave	Tequila
Malt (orge germé)	Whisky
Canne à sucre	Rhum
Pomme	Cidre

3 LES OSIDES

Comme nous venons de le voir, certains oses existent à l'état libre dans la nature, tel le glucose ou le fructose. Mais le plus souvent, les sucres se trouvent associés dans les produits naturels :

- soit entre eux : **holosides** ;
- soit avec des substances diverses de nature non glucidiques : **hétérosides**.

I LIAISON OSIDIQUE ET POUVOIR RÉDUCTEUR DES OSIDES

On emploie couramment l'expression « **liaison osidique** » pour désigner la jonction entre deux motifs dans un oside, qu'il s'agisse d'un holoside ou d'un hétéroside. Les oses sont unis les uns aux autres par cette liaison, comme les perles d'un collier sont reliées par un fil. La dénomination se fait en indiquant les carbones des deux oses qui participent à cette liaison. *Exemples* :

- le saccharose : α-D-glucopyranosyl(1-2)β-D-fructofuranoside ;
- le lactose : β-D-galactopyranosyl(1-4)α-D-glucopyranose.

Suivant les carbones impliqués dans la liaison osidique, on distinguera des osides réducteurs ou non, c'est-à-dire capables ou non de réduire la liqueur de Fehling. Cette propriété très importante est caractéristique des sucres.
Il faut bien comprendre pourquoi un sucre est dit « réducteur » ou non :

• les **osides non réducteurs** : la liaison osidique se fait entre les groupes réducteurs des oses ;
• les **osides réducteurs** : la liaison osidique se fait entre le groupe réducteur d'un ose et une fonction alcool de l'autre. Dans ce cas, il reste sur la molécule un groupe réducteur.

Pour être réducteur, un sucre doit pouvoir se retrouver sous la forme linéaire afin de reprendre sa fonction réductrice. Quel que soit le nombre d'oses dans le sucre, il faut qu'un des oses au moins présente sur son carbone anomère, l'hydroxyle libre. Ceci permettra l'ouverture du cycle et la fonction réductrice pourra réagir avec la liqueur de Fehling. Le sucre sera alors dit « réducteur ». Si aucun ose du glucide ne peut reprendre la forme linéaire, le sucre sera non réducteur. *Exemple* : lactose réducteur et saccharose non réducteur (*cf.* schéma ci-après).

FORMULES D'UN SUCRE RÉDUCTEUR, LE LACTOSE, ET D'UN SUCRE NON RÉDUCTEUR, LE SACCHAROSE

saccharose : sucre non réducteur

lactose : sucre réducteur

CLASSIFICATION DES OSIDES

La classification se fait selon la constitution de l'oside :
• **holosides** : composés dont l'hydrolyse acide ne libère que des oses et chez lesquels on distingue :
– les **oligosides** ou **oligosaccharides** : combinaison de deux à dix molécules d'oses ; on parle de disaccharides, trisaccharides, etc. ;
– les **polyosides** ou **polysaccharides** ou **glycannes**, plus de dix molécules d'oses combinées par des liaisons osidiques ;
• **hétérosides** (glycosides) : leur hydrolyse libère une ou plusieurs molécules d'oses (sous forme pyranose ou furanose) et une substance non glucidique appelée « **aglycone** » ou « **génine** ». Selon le type de liaison entre un ose et l'aglycone, on distingue :
– les **O-hétérosides** : liaison entre l'ose et une fonction alcool ou phénol de l'aglycone. Ce sont les plus fréquents, autrement dénommés « glissoires » ;
– Les **O-hétérosides** sont très répandus chez les végétaux. Citons, par exemple, le rutoside, l'esculoside, les sennosides, la glycyrrhizine, et les hétérosides cardiotoniques ou « digitoxosides » qui seront développés à la fin de ce chapitre ;
– les **N-hétérosides** : liaison de l'ose avec le groupement azoté de l'aglycone (acides nucléiques) ;
– les **C-hétérosides** : liaison entre un C de l'ose et un C de l'aglycone (hétérosides de l'aloès) ;
– les **S-hétérosides** : mettant en jeu un groupe soufré de l'aglycone (crucifères).

PRINCIPAUX DIHOLOSIDES : SACCHAROSE, LACTOSE, MALTOSE

Saccharose

Extrait du jus de canne à sucre ou de la betterave, il est présent chez tous les végétaux et constitue le sucre du commerce. C'est le plus abondant et le moins cher des produits organiques purs préparés en grande quantité (90 millions de tonnes par an environ) à partir de la canne à sucre ou de la betterave à sucre.



Pendant la Révolution française et le blocus des ports, la métropole ne pouvait plus s'approvisionner en sucre provenant des Antilles. Les chimistes ont alors mis au point la méthode d'extraction du sucre depuis la betterave, cultivable en métropole. Napoléon permit le développement de l'industrie sucrière en métropole, au détriment des Antilles qui développèrent alors leurs relations avec les États-Unis.

Il résulte de l'association du D-glucose et du D-fructose. Ces deux oses se trouvent sous forme cyclique : glucopyranose et fructofuranose, α-D-glucopyranosyl(1-2)β-D-fructofuranoside (*cf.* schéma précédent).
Le pouvoir rotatoire du saccharose est dextrogyre + 66,5° à 20 °C. Par hydrolyse, il donne un mélange équimoléculaire de glucose et de fructose. Le pouvoir rotatoire de ce mélange est lévogyre : – 19,7° à 20 °C. On parle alors de « sucre inverti ». Ceci est dû au fructose, qui dévie plus la lumière que le glucose. Cette caractéristique permet le dosage du saccharose par polarimétrie.
Le saccharose est non réducteur ; les deux carbones anomères sont engagés dans la liaison glycosidique.



Dans le cadre de régime hypoglucidique, on est parfois mené à utiliser des édulcorants autres que le saccharose. Différents sucres ou polyol ou produits de synthèse sont utilisés. Le *tableau* ci-dessous présente différents succédanés du sucre, leur pouvoir sucrant et leur provenance.

Succédanés du sucre	Pouvoir sucrant	Origine
Saccharose	1	Plantes sacchariféres
Fructose	1,1 à 1,3	Fruits
Sucre inverti	1,15	Hydrolyse du saccharose (mélange 1/1 de glucose et de fructose)
Sorbitol	0,5 à 0,6	Hydrogénation du glucose
Maltitol	0,8 à 1	Hydrogénation du maltose
Mannitol	0,5 à 0.7	Hydrogénation du mannose
Saccharine	300 à 400	Acide ortho-sulfobenzimide
Aspartam	100 à 200	Dipeptide : ester méthylique de l'aspartyl-phénylalanine

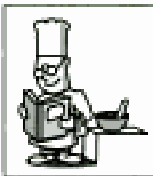
Lactose

Seul disaccharide réducteur existant à l'état libre, le lactose (β-D-galactopyranosyl(1-4)-D-glucopyranose, *cf.* schéma précédent) se trouve dans le lait de tous les mammifères : 6,2 g/100 mL dans le lait de femme, 5 g/100 mL dans celui de la vache.

C'est un sucre réducteur, au goût faiblement sucré (1/6 par rapport au saccharose, ce qui explique que les régimes lactés sont bien acceptés).

Dans l'organisme, une enzyme est capable d'hydrolyser le lactose. C'est la lactase. Certains enfants, à la naissance, sont dépourvus de cette enzyme. Avec l'âge, l'activité lactasique peut diminuer. Dans ces deux cas, il se développe une intolérance au lait. Elle est réversible chez l'enfant, quand l'enzyme est produite. Cela se traduit chez le nourrisson par des diarrhées, des vomissements, une déshydratation et un amaigrissement. Comment peut-on expliquer ces symptômes ? Le sucre n'est pas absorbé, l'enfant maigrit.

Le lactose reste dans le tube digestif et augmente la pression osmotique. L'eau va alors quitter les cellules de l'organisme pour compenser cette pression, d'où diarrhée et déshydratation.



La fermentation lactique transforme le lactose en acide lactique. Cela diminue le pH du lait et le fait coaguler. C'est ainsi que sont obtenus les yaourts et les fromages.

Maltose

Il provient de l'hydrolyse de l'amidon et du glycogène. Il peut, à son tour, être hydrolysé en fournissant deux molécules de glucose. C'est donc un produit intermédiaire d'hydrolyse.

C'est un disaccharide réducteur, car sa fonction semi-acétalique reste libre et peut exister sous deux formes α et β : α-D-glucopyranosyl(1-4)-D-glucopyranose.

LE MALTOSE

CH_2OH H O H CH_2OH H O H 4 OH H 1 HO 3 2 α O 4 OH H 1 α OH H OH H OH

α-Maltose

PRINCIPAUX POLYHOLOSIDES : AMIDON, GLYCOGÈNE, CELLULOSE, AGAR-AGAR, ALGINATE, CARRHAGÉNATES, PECTINE

Amidon

C'est la forme de **réserve glucidique chez les végétaux**. On le trouve en général sous forme de grains d'amidon dont la morphologie varie selon l'espèce végétale. Particulièrement abondants dans certaines espèces, ils constituent alors les principaux aliments glucidiques de l'homme. On les trouve dans :

- des graines de céréales telles que blé, maïs, riz ;
- certains tubercules tels que les pommes de terre, manioc, igname ;
- des fruits comme la banane.

Mais il est aussi utilisé en galénique comme épaississant, stabilisant des gels et des émulsions ou comme agent liant et de remplissage.

L'amidon présente une propriété physique intéressante : sa solubilité dans l'eau change avec la température. Insoluble dans l'eau froide, il se forme, dans l'eau chaude un empois (industrie des colles et textiles). L'empois d'amidon est formé d'agrégats moléculaires qui entraînent la précipitation du polysaccharide. C'est le phénomène de rétrogradation : il intervient dans la fluidification des colles et des empois, ainsi que dans le durcissement du pain rassis.

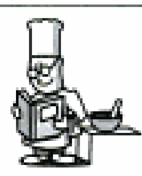
Chimiquement, l'amidon est constitué :

– d'amylose (15-30 %) : chaîne de glucose liées par des liaisons 1,4 et

– d'amylopectine (70-85 %) : chaînes de glucose reliées à l'amylose par des liaisons 1,6.

L'amylase est l'enzyme qui, dans l'organisme, hydrolyse les liaisons 1,4 de l'amidon pour libérer du maltose. Ce dernier sera hydrolysé par la maltase en deux molécules de glucose assimilables par l'organisme.

Les liaisons 1,6 sont hydrolysées plus lentement par l'organisme.



Chez les diabétiques, l'apport des sucres est contrôlé. Le régime alimentaire auquel ils sont soumis consiste à apporter des sucres qui seront digérés et assimilés lentement par l'organisme, afin de diminuer la glycémie postprandiale et le pic de sécrétion d'insuline. Plus un aliment est rapidement hydrolysé et assimilé, plus il augmentera la glycémie et induira la sécrétion d'insuline. Exemple avec les bonbons, le chocolat, les sodas, c'est-à-dire des aliments correspondant à la notion de « sucre rapide »… Plus l'aliment sera digéré lentement, meilleur cela sera pour l'organisme. Il faut pour cela que l'aliment contienne de longues chaînes de glucose les plus ramifiées possible.

Il est ainsi préférable de peu cuire les aliments riches en amidon : les pâtes *al dente* sont moins hydrolysées que des pâtes trop cuites.

La teneur en fibre d'un aliment est importante : plus il y a de fibres alimentaires, plus la digestion est lente. Croquer un fruit reste préférable à en boire le jus uniquement. Un aliment complet (riz complet, blé complet) est digéré plus lentement que le même aliment raffiné.

Ces constatations ont mené à modifier le classement « sucres lents et sucres rapides » qui ne tient pas compte du mode de cuisson ou de l'association des aliments entre eux. Maintenant, les aliments sont classés en fonction de la quantité d'insuline libérée lors de leur consommation. Il faut favoriser les aliments à index glycémique (IG) faible, c'est-à-dire les aliments ou les associations dont la digestion est ralentie. Cela permet également de diminuer les sensations de faim et le grignotage. Les pommes de terre cuites à la vapeur ont un IG plus faible que les pommes de terre en purée, plus cuites. Idem pour le pain complet et le pain blanc.

FORMULES DE L'AMYLOSE ET DE L'AMYLOPECTINE

amylose

Chaîne d'unités α-glucose

amylopectine

Un dérivé de l'amidon, l'hydroxyéthylamidon (Elohes®, Hesteril®) est utilisé comme succédané du plasma.

Glycogène

C'est la **forme de stockage du glucose chez les animaux** (surtout localisé au niveau hépatique jusqu'à 7 % du poids frais et musculaire). La structure est la même que celle de l'amylopectine. Cependant, le glycogène est souvent plus ramifié et comporte donc davantage de liaisons α-1-6-glucosidiques. Son poids moléculaire peut atteindre plusieurs dizaines de millions de daltons.

Le glycogène et l'amidon ingérés dans l'alimentation sont hydrolysés par des α-amylases. Ces enzymes, localisées dans la salive et le suc intestinal, coupent les liaisons (α1-4) situées entre les unités de glucose.

Cellulose

C'est le polysaccharide de soutien le plus répandu, puisque la cellulose représente l'**essentiel des parois des cellules végétales**. C'est certainement le composé le plus abondant dans la nature. Elle représenterait la moitié du carbone disponible sur terre.

La forme la plus pure est la fibre de coton (98 %). Le bois en est la source la plus importante. La cellulose y est associée à des composés non glucidiques (lignine) et à d'autres polysaccharides (hémicellulose).

La cellulose est un polysaccharide linéaire constitué d'unités de D-glucopyranose reliées par des liaisons β(1-4).

CELLULOSE

La cellulose

La cellulose n'est que partiellement hydrolysable par les enzymes présents dans le tube digestif de l'homme. Elle est consommée en tant que fibre alimentaire. Elle facilite le transit intestinal en augmentant le ballast : les fibres se gonflent d'eau. En plus d'être un aliment de lest, elle ralentit l'absorption des graisses et des sucres en les emprisonnant dans son maillage.

Les ruminants, eux, se nourrissent de cellulose car ils ont dans leur tube digestif des micro-organismes (protistes et bactéries telle *Trichonympha*) dont les enzymes hydrolysent ce polyoside.

La cellulose a également un autre rôle économique. Modifiée chimiquement, elle conduit ainsi à une série de produits industriels :

- nitrocellulose : explosifs ;
- esters :
  - acétate : rayonne, support pour électrophorèse, membrane de dialyse ;
  - xanthate : viscose ;
- éthers carboxyméthyl- et diéthylaminoéthylcelluloses utilisés en chromatographie d'échange d'ions.

Agar-agar, alginate, carrhagénate, pectine

Agar-agar

Agar, gélose, E406 : extrait de l'algue rouge *Rhodophyceae*. Substitut de la gélatine, il est utilisé en pharmacie pour l'encapsulation de drogue et la préparation de pommade. En agroalimentaire, c'est un gélifiant intense (confiserie, gelée de fruits).

Il fait partie des mucilages, substances utilisées comme laxatifs de lest : Elusanes®, Mucipulgite®…

Alginate

Polymère de l'acide mannuronique. Utilisé dans l'industrie pharmaceutique et en agroalimentaire pour la préparation des glaces, comme stabilisateur des colloïdes, pour augmenter la texture de crèmes et la prévention de cristaux d'eau. On utilise surtout :

- l'alginate de sodium E400 à E405, gélifiant des préparations sans lait ;
- l'alginate de calcium (Coalgan®) pour son pouvoir gonflant en milieux aqueux. Préparé sous forme d'ouate, il possède des propriétés hémostatiques dans les hémorragies externes (Dosastéryl®, ouate hémostatique US®, Stop hémo®).

En pharmacie, l'alginate est prescrit dans le reflux gastro-intestinal (Gaviscon®) ; surnageant à la surface du contenu gastrique, il limite les remontées acides dans l'œsophage.

Carrhagénate

E407, groupe hétérogène, obtenue à partir de différentes algues rouges. Elle est utilisée dans le traitement de la constipation ; le mucilage gonfle dans l'eau en donnant un liquide visqueux, ce qui augmente le volume des selles.

Stabilisant et émulsionnant dans l'industrie pharmaceutique et agroalimentaire, elle augmente la viscosité d'un mélange.

Pectine

E440, présente dans les parois des cellules de toutes les plantes et les fruits (pommes, coings et agrumes : pépins d'orange et de citron).

Elle est responsable du phénomène de prise en gelée et est fortement utilisée en agroalimentaire, pour les confitures par exemple. Nos grands-mères mettaient des pépins emprisonnés dans de la gaze pour réaliser les confitures et gelées. Aujourd'hui, on vend du sucre pectiné ou de la pectine pure.

En pharmacie, la pectine est utilisée dans le traitement symptomatique des régurgitations du nourrisson (Gélopectose®).

HÉTÉROSIDES : DÉFINITION ET EXEMPLES

Définition : les hétérosides sont constitués d'un holoside lié à un groupement non glucidique nommé « aglycone » ou « génine ». Ils sont insipides, amers ou sucrés, parfois astringents.

Hétéroside = holoside + aglycone (génine)

Acide hyaluronique

Lubrifiant dans les liquides synoviaux des articulations, il est également contenu dans l'humeur vitrée de l'œil. Les sels de l'acide hyaluronique forment des solutions claires, de haute viscosité. Ils ont un rôle structural dans le tissu conjonctif.

Cet acide est utilisé dans le traitement de la gonarthrose douloureuse avec épanchement (Hyalgan®).

Glycoprotéines et glycolipides

Ce sont des composants membranaires situés sur la face externe des membranes cellulaires.

Certaines glycoprotéines disposées à la surface des hématies déterminent la spécificité du groupe sanguin d'un individu. La présence du galactose en bout de chaîne imposera le groupe B et l'acétylgalactosamine le groupe A. L'absence de l'un ou de l'autre conduira au groupe O.

Héparines

Anticoagulant injectable, les héparines sont des glucosaminoglycanes, des O-hétérosides.

Digitoxosides

Hétérosides cardiotoniques, ils sont utilisés en thérapeutique pour ralentir, régulariser le rythme cardiaque et renforcer la contraction ventriculaire (règle « des trois R »). Ils donnent par hydrolyse des oses divers (galactose, xylose, digitoxose, etc.) et une génine (digitogénine, digitoxigénine…).

Exemples :

Digoxine = digitoxose (3 molécules) + dogoxigénine

Digitaline = digitoxose (3 molécules) + digitoxogénine

Digitonine = glucose + galactose + digitogénine



4 MÉTHODES D'IDENTIFICATION ET DE DOSAGE DES GLUCIDES

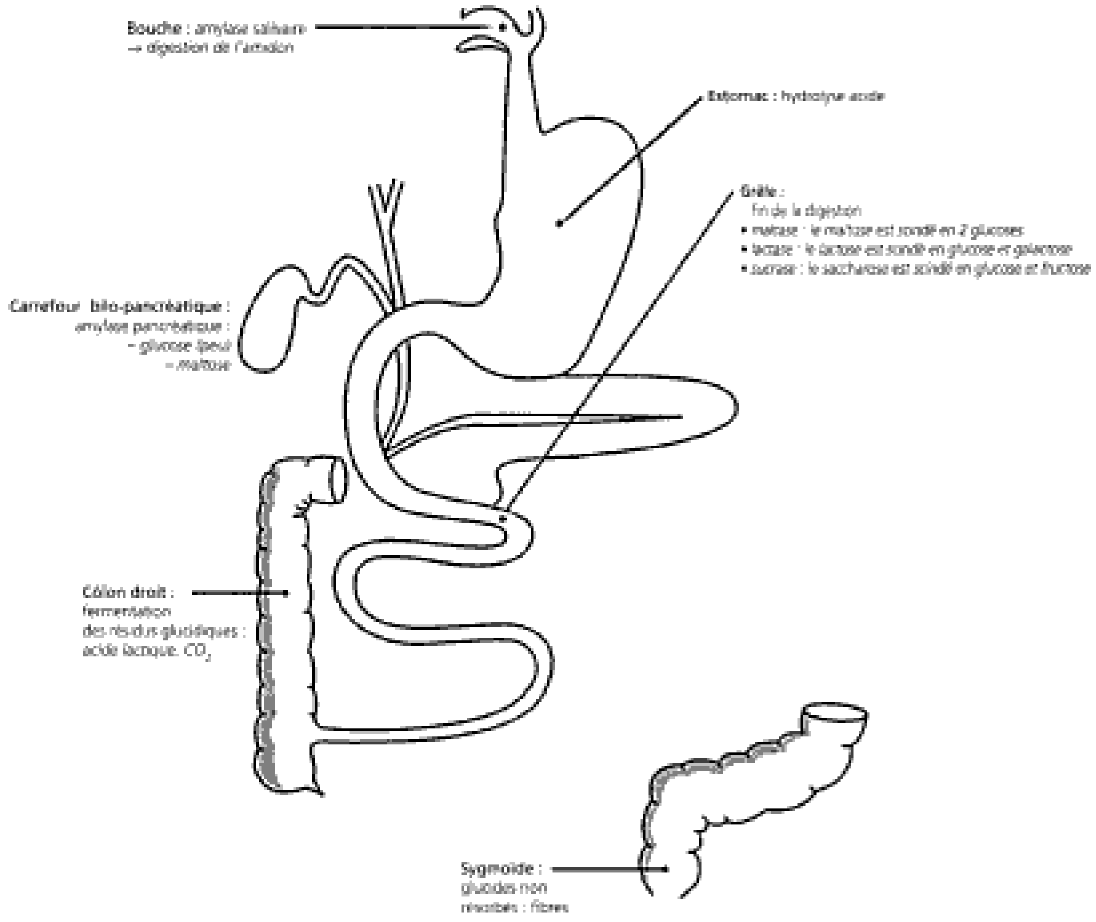
Ce sujet est traité dans le *chapitre* « Méthodes d'étude et d'analyse des biomolécules ».

Un *tableau* y réunit les différentes techniques utilisées pour les glucides.



5 SORT DES GLUCIDES DANS LE TUBE DIGESTIF

Le *schéma* ci-après rappelle les noms et localisations des principales enzymes intervenant dans la digestion des glucides.



Source : « Nutrition et alimentation », Abrégé Masson, B. Dacostat, J.-C. Le Paice.

Test de connaissances

Pour répondre à ce questionnaire, les apprenants se référeront au cours.

1. Indiquer la définition d'un glucide. Citer les critères de classification des oses.

2. Indiquer les rôles des glucides dans l'organisme humain. Montrer également leur importance dans l'économie d'un pays.

3. Écrire les formules du D-(+)-glucose selon les représentations de Fisher et de Haworth.

4. Définir le pont osidique (oxydique) et la liaison osidique.

5. Soit la forme chaise du β-D-(+)-glucofuranose, expliquer les appellations : chaise, β, D, (+), furanose.

6. Qu'est-ce que le pouvoir rotatoire d'un sucre ? Pourquoi un sucre présente-t-il cette propriété physique ?

7. La liqueur de Fehling : sa composition, sa fonction.

8. Qu'est-ce que le carbone anomère ?

9. Préciser le produit d'oxydation du β-D-(+)-glucopyranose. Donner son nom et son rôle dans l'organisme humain.

10. Qu'est-ce que la fermentation alcoolique ?

11. Définir un holoside et un hétéroside.

12. Pour les diholosides suivants : le saccharose, le lactose et le maltose, donner leur composition. Sont-ils réducteurs, pourquoi ? Nommer l'enzyme qui les hydrolyse dans l'organisme.

13. L'amidon et le glycogène : donner sa composition. Est-ce un sucre réducteur, pourquoi ? Nommer l'enzyme l'hydrolysant dans l'organisme.

14. La cellulose : donner sa composition. Pourquoi ne peut-elle être hydrolysée par l'organisme humain ?

15. Citer d'autres polyholosides.

16. Indiquer des exemples d'hétérosides.

17. Qu'est-ce que le sorbitol ?

18. Quelles sont les propriétés du glucose ayant un intérêt analytique ?

Exercices

1. Le sorbose est un cétohéxose. Indiquer sa formule semi-développée.
On fait réagir sur le sorbose de l'hydrogène H_2. Nommer cette réaction. Écrire la formule semi-développée du corps obtenu. À quelle famille appartient le corps obtenu ?

2. Compléter le tableau suivant.

	CHO HO—C—H HO—C—H H—C—OH CH_2OH	CH_2OH C=O HO—C—H CH_2OH	CHO H—C—OH H—C—OH HO—C—H CH_2OH	CH_2OH C=O H—C—OH H—C—OH H—C—OH CH_2OH
Série D ou L				
Aldose				
Cétose				
Tétrose				
Pentose				
Hexose				
Nombre de C asymétriques				

Indiquer les carbones asymétriques par une étoile.

3. Soit le galactose de formule :

CHO
H—C—OH
HO—C—H
HO—C—H
H—C—OH
CH_2OH

Indiquer à quelle famille il appartient, en donnant ses deux critères de classification.
Quelle structure cyclique peut-il former ?
On associe le galactose avec du glucose. Préciser le nom de la liaison. Indiquer le nom du composé formé. À quelle famille appartient ce composé ?

4. Soit le lactose β-D-galactopyranosyl(1-4)D-glucopyranose. Indiquer la signification des termes : β, D et pyranose.
On hydrolyse le lactose. Préciser le nom des produits obtenus. Le lactose est-il un sucre réducteur ? Pourquoi ?

5. Soit l'acide glucuronique obtenu par oxydation du glucopyranose en C6. Préciser la formule de l'acide glucuronique. Indiquer son rôle dans l'organisme.

6. Soit un diholoside formé de deux molécules d'α-D-galactose reliées en C1-C1. Préciser sa nomenclature. Ce diholoside est-il réducteur ? Pourquoi ?

7. Soit un diholoside D : il ne réagit pas avec la liqueur de Fehling et son hydrolyse fournit deux molécules d'α-D-glucopyranose. Préciser sa nomenclature précise.
La β-glucosidase peut-elle catalyser son hydrolyse ? Pourquoi ?

8. Soit un composé C de nomenclature : α-D-glucopyranosyl(1-4)β-D-fructofuranose. Indiquer à quelle famille appartient le composé C.
Indiquer la position de la liaison osidique.
Préciser la nomenclature des oses obtenus après hydrolyse.
Pour chacun des oses, indiquer la place du pont osidique.

9. La coniférine est un hétéroside présent dans la sève des conifères. Sa formule est la suivante :

CH_3O
CH_2OH
H O —O— CH=CH—CH_2OH
H
OH H
HO H
H OH

Définir le terme « hétéroside ».
Quels sont les produits obtenus après hydrolyse ?

10. Parmi ces oses, lequel n'est pas un aldose ?
- **a.** glucose ;
- **b.** fructose ;
- **c.** galactose ;
- **d.** ribose ;
- **e.** mannose.

11. Répondre par vrai ou faux :
- **a.** le saccharose est réducteur ;
- **b.** le saccharose est un polyholoside ;
- **c.** le saccharose est constitué de glucose et de fructose ;
- **d.** le mannose est un diholoside ;
- **e.** le maltose est un produit intermédiaire de la dégradation de l'amidon.

12. Parmi ces glucides, lequel n'est pas un polyholoside ?
- **a.** glycogène ;
- **b.** amidon ;
- **c.** maltose ;
- **d.** cellulose ;
- **e.** agar-agar.

13. Parmi les propositions suivantes, cocher la réponse exacte. Un hétéroside :
- **a.** libère deux oses par hydrolyse ;
- **b.** comporte une partie non glucidique ;
- **c.** n'est formé que de molécules de glucose ;
- **d.** est un holoside ;
- **e.** ne fait pas partie des glucides.

LES PROTÉINES



1 INTRODUCTION

DÉFINITION

Les protides constituent le plus vaste groupe de composés biologiques. Ils comprennent les acides aminés naturels et les composés dont l'hydrolyse totale ou partielle conduit à des aminoacides.

NOMENCLATURE

Selon le nombre d'aminoacides reliés entre eux, on distinguera :
- les **oligopeptides** : moins de 10 acides aminés (dipeptides, tripeptides...) ;
- les **polypeptides** : entre 10 et 100 acides aminés (ex. : 24-peptides, qui représentent la fraction active de l'ACTH) ;
- les **protéines** : au-delà. Le poids moléculaire dépasse 10 000 daltons.

La limite entre les polypeptides et les protéines n'est pas toujours franche. *Exemple* : l'insuline, monomère voisin de 6 000 daltons, qui peut fournir un dimère par agrégation des chaînes ; elle reste classée dans les polypeptides.

RÔLES DANS L'ORGANISME

Les protéines ont des rôles variés dans l'organisme. Ce sont des hormones, des anticorps, des constituants des membranes cellulaires... Certains acides aminés sont les précurseurs de neuromédiateurs ou de coenzymes. *Exemples* :
- tyrosine : catécholamines ;
- tryptophane : sérotonine (5HT) ;
- acide glutamique : GABA (acide γ-aminobutyrique) ;
- cystéine : coenzyme A, glutathion.

L'homme ne peut pas synthétiser les acides aminés, il doit les trouver dans son alimentation. Les sources alimentaires sont variées :
- protéines végétales : maïs, soja, pois chiches, etc. ;
- protéines animales : viandes, poissons, œufs, produits laitiers...



2 LES ACIDES AMINÉS NATURELS

Les termes d'« acide aminé » ou d'« aminoacide » correspondent à une molécule dans laquelle on trouve réunies une fonction amine (NH_2) et une fonction acide carboxylique (—COOH). La position relative des deux fonctions sur la molécule peut varier :
- acides α-aminés : la fonction aminée est en C2 ;
- acides β-aminés : la fonction aminée est en C3.

En biochimie, seuls nous intéresseront les α-aminoacides.

FORMULE GÉNÉRALE D'UN ACIDE α-AMINÉ

$$R-\overset{\alpha}{C}H(NH_2)-COOH$$

Seuls les végétaux sont capables de synthétiser les acides aminés à partir des glucides obtenus par photosynthèse.
Les protéines animales et végétales de l'alimentation sont hydrolysées dans le tube digestif, libérant ainsi les acides aminés qui seront assimilés par l'organisme. Ces molécules seront alors réutilisées par l'organisme pour synthétiser ses propres protéines. Il existe une vingtaine d'acides animés qui nous intéressent tout particulièrement en biochimie.

STRUCTURE ET EXEMPLES

Formule générale

Mis à part la glycine, les acides aminés possèdent un carbone asymétrique (C*) en α de la fonction acide et sont donc optiquement actifs, avec une forme dextrogyre et une forme lévogyre. Comme pour les oses, il existe deux séries, L et D. Les acides aminés, qui jouent un rôle dans les processus biologiques, ont tous la même configuration absolue et appartiennent à la **série L**, par référence au L-glycéraldéhyde. Ce qui compte ici, c'est la position de la fonction NH_2, placée en α du carbonyle. Ceci ne préjuge pas du pouvoir rotatoire.

L-GLYCÉRALDÉHYDE ET FORMULE GÉNÉRALE D'UN L-AMINOACIDE

$$\begin{array}{c} CHO \\ | \\ HO-C-H \\ | \\ CH_2OH \end{array} \qquad \begin{array}{c} COOH \\ | \\ H_2N-C-H \\ | \\ R \end{array}$$

Classification en fonction de la nature de leur radical

La plupart des acides aminés importants portent un nom usuel, par lequel ils sont toujours désignés. Les règles de nomenclature systématique ne seront donc pas exposées.

LISTE DES ACIDES AMINÉS INTÉRESSANT LA BIOCHIMIE

	Noms	Abréviations		Formules	pH_i
Petits acides aminés polaires	Sérine	Ser	S	$HO-CH_2-CH(COOH)(NH_2)$	5,68
	Glycine	Gly	G	$H-CH(COOH)(NH_2)$	6,06
	Acide aspartique	Asp	D	$HO(O=)C-CH_2-CH(COOH)(NH_2)$	2,97
	Asparagine	Asn	N	$H_2N(O=)C-CH_2-CH(COOH)(NH_2)$	5,41
Gros acides aminés polaires	Acide glutamique	Glu	E	$HO(O=)C-CH_2-CH_2-CH(COOH)(NH_2)$	3,22
	Glutamine	Gln	Q	$H_2N(O=)C-CH_2-CH_2-CH(COOH)(NH_2)$	5,65
	Lysine	Lys	K	$H_3\overset{\oplus}{N}-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH(COOH)(NH_2)$	9,74
	Arginine	Arg	A	$H_2N(\oplus HN=)C-NH-CH_2-CH_2-CH_2-CH(COOH)(NH_2)$	10,76
Polarités faible	Tyrosine	Tr	Y	$HO-C_6H_4-CH_2-CH(COOH)(NH_2)$	5,65
	Histidine	His	H	(imidazole: NH, N)$-CH_2-CH(COOH)(NH_2)$	7,58
	Tryptophane	Trp	W	(indole: HN)$-CH_2-CH(COOH)(NH_2)$	5,89
Gros acides aminés apolaires	Phénylalanine	Phe	F	$C_6H_5-CH_2-CH(COOH)(NH_2)$	5,53
	Méthionine	Met	M	$H_3C-S-CH_2-CH_2-CH(COOH)(NH_2)$	5,75
	Leucine	Leu	L	$(H_3C)_2CH-CH_2-CH(COOH)(NH_2)$	6,00
	Isoleucine	Ile	I	$(H_3C)(H_3C-H_2C)CH-CH(COOH)(NH_2)$	6,02
	Valine	Val	V	$(H_3C)_2CH-CH(COOH)(NH_2)$	5,97
Petits acides aminés apolaires	Cystéine	Cys	C	$HS-CH_2-CH(COOH)(NH_2)$	5,07
	Proline	Pro	P	(cycle: NH, COOH)	6,30
	Alanine	Ala	A	$H_3C-CH(COOH)(NH_2)$	6,02
	Thréonine	Thr	T	$H_3C-CHOH-CH(COOH)(NH_2)$	6,16

La classification des acides aminés se fait selon la nature de leur radical. Les acides aminés sont classés en trois catégories :

- les acides aminés neutres ;
- les acides aminés basiques ;
- les acides aminés acides.

Les neufs acides aminés suivants sont considérés comme indispensables : Val, Leu, Ile, Phe, Trp, Lys, Thr, Cys et Met. L'absence de l'un d'entre eux dans l'alimentation déséquilibre le bilan azoté.

Ion mixte et pH isoélectrique

Un acide aminé contient deux groupements antagonistes, l'un est acide, l'autre basique. De façon générale, ces deux fonctions sont ionisées. Elles se retrouvent sous la forme de $—COO^-$ et $—NH_3^+$. Sous cette forme, l'acide aminé devient un ion bipolaire, « zwitterion » ou « sel interne », ou encore **ion mixte**. Cette particularité de l'acide aminé explique qu'il sera soluble dans l'eau, insoluble dans l'éther et que son point de fusion est élevé. Cela correspond au caractère ampholyte des acides aminés, qui sont alors dits **amphotères**.

Les différents équilibres auxquels donne lieu un acide aminé en solution peuvent se résumer selon le *schéma* suivant.

INFLUENCE DU PH DE LA SOLUTION SUR LA STRUCTURE IONIQUE D'UN AMINOACIDE

$$H_3\overset{+}{N}-CH(R)-COOH \underset{H^+}{\overset{OH^-}{\rightleftharpoons}} \left[H_3\overset{+}{N}-CH(R)-COO^- \rightleftharpoons H_2N-CH(R)-COOH \right] \underset{OH^-}{\overset{H^+}{\rightleftharpoons}} H_2N-CH(R)-COO^-$$

acide conjugué — à pHi ion dipolaire — base conjuguée

La proportion d'acide ou de base est définie par le pH de la solution. En milieu fortement basique, le groupement acide sera ionisé de façon prépondérante et la formation de la base conjuguée (anion) est favorisée. De même, en milieu fortement acide, le groupement basique sera ionisé de façon prépondérante et la formation de l'acide conjugué (cation) est favorisée. Il existe logiquement une valeur de pH pour laquelle la concentration en cations et en anions est la même. C'est le **point isoélectrique** (pHi) de l'acide aminé. Elle correspond habituellement à un minimum de solubilité dans l'eau. Au point isoélectrique, les concentrations des deux sortes d'ion étant égales, on n'observera aucun transfert préférentiel vers l'une des électrodes. Ces remarques sont mises en application dans la séparation analytique des acides aminés par **électrophorèse**.

PROPRIÉTÉS GÉNÉRALES

Double ionisation

La capacité des acides aminés à donner des ions mixtes est une propriété spécifique. Elle est mise à profit en analytique dans la méthode d'électrophorèse (*cf.* chapitre « Méthodes d'étude et d'analyse des biomolécules »).

Réaction à la ninhydrine

Il existe une autre réaction spécifique des acides aminés. Des oxydants très forts décarboxylent et désaminent les acides aminés, conduisant à la synthèse d'un aldéhyde.

$$R_2C(NH_2)—COOH + Ox\ puissant \longrightarrow R_2CHO + CO_2 + NH_3 + Ox\ réduit$$

Cette technique est courante en laboratoire pour détecter la présence d'acides aminés sur les plaques de chromatographie. La ninhydrine est le réactif le plus utilisé. Il s'emploie en solution dans un alcool (éthanol, butanol) ou l'acétone. On le pulvérise sur les plaques qui sont alors mises à sécher. Après évaporation du solvant, une coloration bleu violacée apparaît en présence de protéine. Cette coloration est due à la formation du **pourpre de Ruhemann**, formé entre une molécule de ninhydrine, une autre réduite et l'ammoniac formé.

Ninhydrine + $H_2N-CH(R)-COOH$ ⟶ ninhydrine réduite + $R-CHO$ + NH_3 + CO_2

Ninhydrine

ninhydrine réduite + NH_3 + ninhydrine ⟶ pourpre de Ruhemann (H^+) + $3\ H_2O$

Pourpre de Ruhemann

Les protéines donnent la réaction sans hydrolyse préalable. La réaction n'est cependant pas totalement sélective des acides aminés. Elle est donnée par les aminoalcools (éthanolamine) et l'histidine. L'ammoniaque donne également une réaction positive.
La proline et l'hydroxyproline, amines cycliques, donnent une teinte jaune orangée (mécanisme différent).



LES PROTÉINES

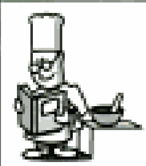
LA LIAISON PEPTIDIQUE

La liaison peptidique

Les protéines sont formées de l'enchaînement de plusieurs acides aminés. Ils sont liés les uns aux autres par des liaisons peptidiques. Il s'agit d'une liaison amide (—CO—NH—) formée entre la fonction acide du premier acide aminé et la fonction amine du deuxième. Par convention, on écrit toujours l'acide aminé qui possède le groupement NH_2 libre à gauche et cet acide aminé portera le numéro 1.

FORMULE CHIMIQUE DE L'ASPARTAME : ASP-PHE-1-MÉTHYL ESTER

$H_2N-CH(CH_2-COOH)-CO-NH-CH(CH_2-C_6H_5)-COOCH_3$



L'aspartame est un édulcorant utilisé dans les régimes hypocaloriques et la diététique des diabétiques. À froid, son pouvoir gustatif sucrant est équivalent au saccharose. À chaud pourtant, il peut laisser un léger goût amer. Cela est dû au fait qu'à chaud, les deux acides aminés se dissocient et leurs goûts remplacent alors celui de l'aspartame. Or, si l'acide aspartique est sans goût, la phénylalanine, elle, est amère !
Attention, l'aspartame ne doit pas être consommé par des patients atteints de phénylcétonurie.

STRUCTURE SPATIALE DES PEPTIDES ET DES PROTÉINES

Les protéines sont effectivement une suite d'acides aminés liés les uns aux autres par des liaisons peptidiques. Mais ils présentent une structure en trois dimensions qui s'explique.

Structure primaire

Ce terme représente la séquence linéaire des acides aminés dans les chaînes protéiques. Cette séquence s'énumère à partir de l'acide aminé dont le NH_2 n'est pas engagé dans une liaison peptidique (N terminal : toujours à gauche) vers l'acide aminé dont le COOH est libre (C terminal : placé à droite). Chaque acide aminé est affecté d'un numéro d'ordre qui définit sa place dans la séquence à partir du N terminal.
On connaît la séquence primaire d'un grand nombre de peptides et de protéines, en fait, de pratiquement toutes les molécules importantes.

STRUCTURE EN FEUILLETS PLISSÉS, CHAÎNES ANTIPARALLÈLES

—CO—NH— →

← HN—CO—

Cette structure est génétiquement contrôlée. C'est pourquoi, dans une espèce déterminée, une même protéine possède toujours la même structure primaire. Des mutations peuvent entraîner des erreurs dans cette biosynthèse. Portant parfois sur un seul acide aminé, elles peuvent suffire à entraîner des affections graves : hémoglobines anormales par exemple.

Structure secondaire

Elle désigne l'arrangement spatial de la chaîne protéique. La formation de liaisons hydrogènes entre les groupes carbonylés —CO— et les groupes —NH— des liaisons peptidiques lui donne un aspect régulier. Bien qu'un grand nombre de possibilités s'offrent pour la formation des liaisons hydrogènes, seuls quelques types de structures secondaires sont rencontrés. Ils correspondent à des configurations préférentielles, où les contraintes stériques sont les plus réduites. Certaines protéines comportent des parties de structures à hélices α et feuillets β.

Structure en feuillets plissés

Elle est encore nommée « configuration β » ou « structure étirée ».

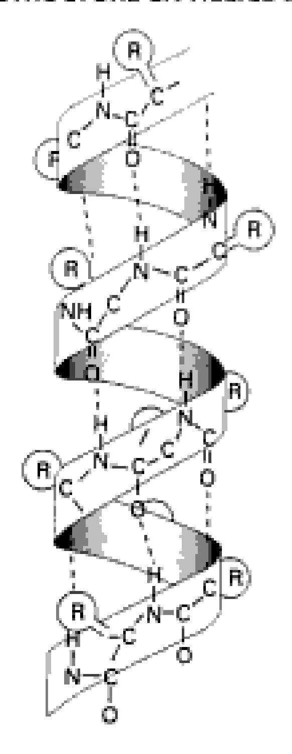
Il s'agit de la succession des plans peptidiques, qui constituent un feuillet plissé, la rendant comparable à un mètre d'architecte. Ceci permet de respecter la coplanairité des liaisons peptidiques. Les liaisons hydrogènes sont intercaténaires, permettant ainsi l'association des chaînes protéiques soit de façon parallèle, soit de façon antiparallèle (le sens H_2N... COOH est opposé sur les deux axes).

Structure en hélice α ou β

L'enroulement de la chaîne peptidique forme une spirale stabilisée par les liaisons hydrogènes intracaténaires. Tous les radicaux sont alors dirigés vers l'extérieur de l'hélice, orientés radialement par rapport à l'axe de rotation, ce qui facilite les interactions avec les molécules d'eau environnantes. Il s'agit d'une structure très compacte.

Avec les acides aminés de la série L, l'hélice tourne spontanément à *droite* autour de l'axe : *hélice α* (myoglobine, hémoglobine). Il y a des structures plus distendues avec enroulement à *gauche*, comme le collagène : hélice β. Par étirement, certaines molécules peuvent aussi passer d'une hélice α à une hélice β, de façon réversible : la kératine par exemple. La proline, l'acide aspartique, la glycine et la sérine favorisent la forme β.

STRUCTURE EN HÉLICE α

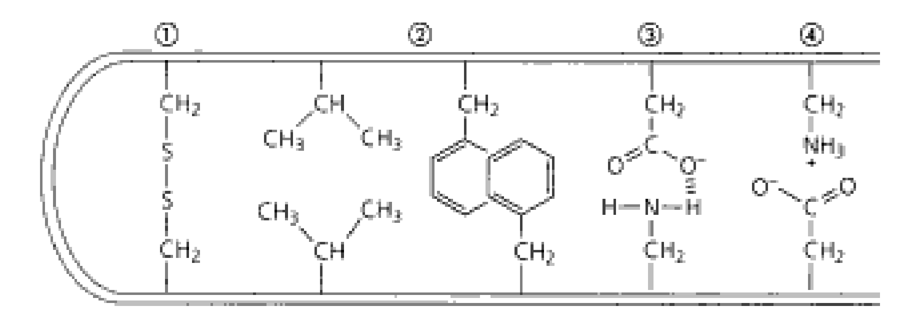


Structure tertiaire

Définition

C'est la structure spatiale ou conformation que prend la protéine globulaire par repliement de la chaîne sur elle-même. Ceci est dû à l'établissement de liaisons entre les résidus R.

PRÉSENTATION DES DIFFÉRENTES LIAISONS IMPLIQUÉES DANS LA STRUCTURE TERTIAIRE DES PROTÉINES



Liaison covalente : ① = pont disulfure

Liaison non covalente : ② Liaisons hydrophobes (apolaire)
③ Liaison hydrogène
④ Liaison ionique (polaire)

Théoriquement, de nombreuses structures tertiaires sont possibles. Dans la nature, on constate qu'à une protéine donnée ne correspond qu'une seule structure tertiaire. Ce sera toujours la configuration la plus stable de la protéine, la moins chère en énergie. C'est sous cette conformation que la protéine présente ses propriétés biologiques.

Liaisons mises en jeu

La stabilité de la structure tertiaire est assurée par l'interaction des résidus entre eux. Ces liaisons concernent des acides aminés plus ou moins éloignés. La plupart de ces liaisons sont de faible énergie et c'est leur grand nombre qui maintient la cohésion de la structure tertiaire.

Par ordre de résistance décroissante, on distingue :

- les **ponts disulfures** : liaisons covalentes qui consolident la structure tertiaire entre deux résidus de cystéine. Elles sont solides, mais labiles en présence de réducteur. Ces ponts sont plus abondants chez les protéines de sécrétion (mucoprotéines).

Beaucoup plus nombreuses sont les liaisons non covalentes :

- les **liaisons hydrophobes** : ou interactions apolaires. Elles peuvent se former en nombre important, car la proportion des acides aminés à chaîne latérale de caractère hydrophobe est assez forte (chaînes aliphatiques et aromatiques). Ces chaînes ont tendance à repousser l'environnement aqueux ;
- les **liaisons hydrogènes** : l'intérieur de la molécule est hydrophile. Les liaisons hydrogènes peuvent alors se former entre les chaînes latérales ;
- les **liaisons ioniques** ou interactions électrostatiques : elles se réalisent par le rapprochement des groupes —COO— et —NH—. L'existence de ces interactions dépend fortement de la force ionique du milieu (concentration saline) et du pH.

De très nombreuses liaisons faibles (dont les forces de Van der Waals) et quelques ponts disulfures maintiennent la protéine dans une **conformation native**. L'information génétique fixe la séquence primaire qui est à l'origine de cette conformation particulière qui crée l'activité biologique. Autrement dit, la structure primaire des protéines suffit à entraîner la mise en place de la structure tertiaire. C'est pourquoi on l'appelle « structure native ».

Structure quaternaire

Cela correspond à l'assemblage de plusieurs protéines (*protomères, monomères*) pour former un *oligomère* soit avec des protomères identiques, soit avec plusieurs protomères différents. L'activité biologique de la protéine est bien souvent conditionnée par cette structure oligomérique et disparaît si l'on dissocie cette structure dite « quaternaire ». L'assemblage des protomères se fait par de nombreuses liaisons ioniques, hydrophobes, hydrogènes et de force de Van der Waals.

Exemple de l'hémoglobine : quatre protomères ($\alpha 2\beta 2$) ; c'est uniquement sous cette forme que l'hémoglobine va fixer le fer et ensuite l'oxygène.

La figure page suivante montre l'évolution structurale de la molécule d'hémoglobine :

a) structure primaire : fragment de la chaîne bêta de l'hémoglobine ;
b) structure secondaire en hélice ;
c) structure tertiaire de l'hémoglobine ;
d) structure quaternaire : les deux fois deux monomères sont assemblés pour former la molécule d'hémoglobine.

Différenciation des protéines fibreuses et des protéines globulaires

Bien que leur classification ne soit pas aisée, on distingue, selon la structure secondaire majoritaire dans la protéine, les protéines fibreuses et les protéines globulaires.

Les protéines fibreuses

Définition

On rassemble dans ce groupe des scléro-protéines des protéines ayant tendance à prendre une structure en fibres. La plupart sont insolubles à froid dans l'eau, les acides ou alcalis dilués. Elles sont de poids moléculaire très mal défini. On les rencontre dans les tissus de soutien et de protection. Certaines de ces protéines, très résistantes aux enzymes protéolytiques, sont utilisées comme fibres textiles (soie, laine).

Exemples

Kératine α (laine, cheveux, plumes, ongles, peau...) : structure rigide de grande résistance. Nombreux radicaux hydrophobes exposés vers l'extérieur (insolubles). Structure de protection résistante, insoluble, de dureté et flexibilité variable. Pour réaliser des « permanentes », les coiffeurs utilisent un réducteur (l'acide thioglycolique) pour casser les ponts disulfures des molécules et leur donner une autre conformation. Les ponts se reforment par un traitement à base d'oxydant (persulfate) redonnant une autre structure α.

Fibroïne de la soie (toile d'araignée) : les feuillets β sont antiparallèles, donc de structure plus souple que la kératine, d'où un filament mou et flexible.

Collagène : protéine fibreuse du tissu conjonctif et des tendons, le collagène représente un tiers des protéines chez l'homme. Par ébullition, en présence d'acide ou de base, les liaisons tertiaires et quaternaires se coupent facilement et le collagène se transforme en *gélatine* (mélange de protéines solubles à chaud et insolubles à froid). Composition exceptionnelle : 35 % de glycine, 11 % d'alanine, 21 % de proline et d'hydroxyproline. Il y a de nombreux résidus lysine et hydroxylysine. Il y a une triple hélice du collagène : trois hélices α se spiralisent l'une autour de l'autre en hélice gauche pour former une molécule de tropocollagène, constituant de base des fibres de collagène. Cette structure en triple hélice explique la résistance importante à la tension sans étirement du collagène.

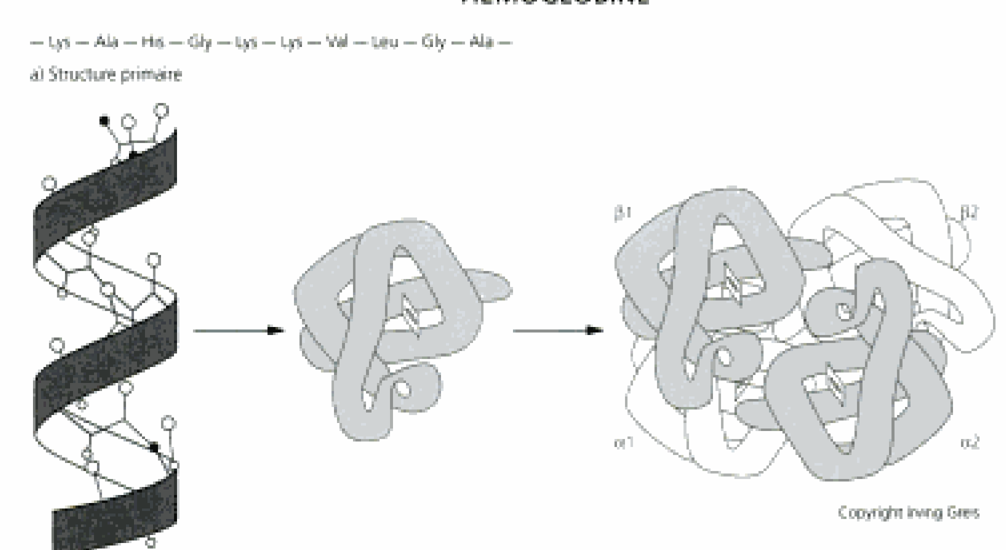
STRUCTURE DU COLLAGÈNE



La longueur de la molécule de collagène est de 300 nm, son diamètre de 1,4 nm.

Élastine (PM > 70 000) : se trouve dans les tissus conjonctifs élastiques, les parois artérielles, les ligaments. Les résidus lysine de différentes chaînes s'entrecroisent par des liaisons

HÉMOGLOBINE



covalentes. Cela forme un réseau très élastique dans tous les sens, responsable de l'élasticité des ligaments.

Myosine : protéine contractile du muscle, formée de deux longues chaînes hydrophobes en hélice, enroulées l'une autour de l'autre. Ces chaînes fibreuses se prolongent par deux têtes globulaires, donnant un aspect de cannes de hockey.

Les protéines globulaires

Définition

Encore dénommées « sphéroprotéines », cette famille contient les protéines douées d'activité biologique. Elles sont le plus souvent solubles en milieux aqueux ou dans les solutions salines diluées.

De structure générale sphérique ou ovoïde, leur structure secondaire est majoritairement en hélice. La majorité des chaînes latérales apolaires est orientée vers l'intérieur de la molécule alors qu'une grande proportion de chaînes polaires est, au contraire, orientée vers l'extérieur. Cela explique la solubilité aqueuse des protéines globulaires et la formation de liaisons avec d'autres constituants biologiques : autres protéines, lipides, acides nucléiques…

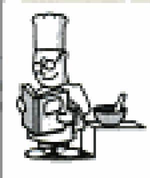
Exemples

Globulines avec la **myoglobine** : responsable de la coloration rouge des viandes ; chromoprotéine d'environ 150 acides aminés. Il se forme une crevasse hydrophobe où se trouve l'hémine (hème + Fe) propice à la fixation de l'O_2. Une très grande homologie de séquence se retrouve entre les myoglobines et les protomères de l'hémoglobine de toutes les espèces.

Lysozyme du blanc d'œuf (129 acides aminés) : E1105 est utilisé pour ses propriétés bactériolytiques en agroalimentaire et en pharmacie.

Ovalbumine : principale protéine du blanc de l'œuf. Elle renferme en proportions équilibrées tous les acides aminés indispensables à l'homme. Ses propriétés gélifiantes et moussantes (« blancs en neige ») diminuent au cours de la conservation de l'œuf.

Caséines (hétéroprotéine : phosphoprotéine) : protéines majeures du lait de vache, présentes en quantités moindres dans le lait maternel. Elles constituent l'apport azoté essentiel des jeunes mammifères. Elles précipitent lors de l'acidification du lait ou en présence de protéases (α-chymotrypsine) et surtout de la présure (extrait de l'estomac, caillette, de jeune veau non sevré) permettant la fabrication des fromages.



Le fromage est une méthode de conservation du lait connue depuis l'Antiquité. Elle est due à la précipitation des protéines du lait et à la fermentation lactique. Le salage permet d'augmenter la saveur et la conservation, limitant le développement microbien. La flore bactérienne modifie l'affinage.

DÉNATURATION DES PROTÉINES

La structure native des protéines est fragile et peut être modifiée de façon plus ou moins profonde par de nombreux facteurs (pH, température, réactif dissociant ou agressif…). Cela conduit à une diminution ou à une perte de l'activité biologique appelée **dénaturation**. Si les modifications sont faibles, la dénaturation est **réversible**, mais si la protéine est incapable de reprendre sa conformation native, il s'agit d'une dénaturation irréversible.

Les critères de dénaturation sont l'insolubilisation des protéines (« coagulation »), l'augmentation de la viscosité des solutions protéiques et la perte de l'activité biologique.

Les agents dénaturants sont très nombreux. Leurs effets peuvent relever de mécanismes physiques, chimiques ou mixtes. Tous les facteurs capables d'entraîner la rupture des liaisons hydrogènes et hydrophobes peuvent être dénaturants.

Citons :

- la **température** : exemple de la coagulation du blanc d'œuf par la cuisson. Il y a rupture des liaisons hydrogènes. Outre la

cuisson des aliments, la stérilisation par la chaleur en est une application bien connue (par dénaturation de leurs protéines, les membranes bactériennes ne sont plus étanches) ;



La préparation d'œufs au plat permet de visualiser la dénaturation des protéines. Le blanc de l'œuf, liquide visqueux incolore avant la cuisson, se dénature à chaud, devenant solide et blanc.

- les **radiations ultraviolettes ou ionisantes** : c'est ainsi que l'on peut inactiver des enzymes ;
- la **dilution des solutions** : provoque une dénaturation de surface, suite aux déformations des protéines à l'interface eau-air ;
- l'**addition de solvant organique miscible à l'eau** (alcool, acétone) : entraîne un changement de conformation qui diminue la solubilité en modifiant l'orientation des radicaux hydrophobes et hydrophiles. Cela change la constante diélectrique du milieu. Les forces attractives entre les protéines augmentent, facilitant ainsi la formation d'agrégats et la précipitation. En milieu aqueux, la présence importante de molécules d'eau diminue les interactions entre les charges opposées des protéines qui alors s'agrégeront peu ;
- l'**urée 8M** et le **chlorure de guanidium 4M** : dissocient les liaisons hydrogènes. On les nomme « agents chaotropiques ».

PROPRIÉTÉS DES PROTÉINES AYANT UN INTÉRÊT ANALYTIQUE

Solubilité

La solubilité des protéines dans leur solvant naturel varie selon leur composition et leur structure. Elle peut être modifiée par l'influence de divers facteurs qu'il est important de connaître quand on veut extraire et purifier une protéine à partir d'un milieu biologique complexe. Ces facteurs sont les suivants :

- la **température** : la solubilité augmente quand la température s'élève, par exemple entre 0 et + 40 °C, mais attention au risque de dénaturation ;
- le **pH** : en dehors des milieux très acides et très basiques qui conduisent à la dénaturation, la solubilité passe par un minimum pour un pH déterminé, variable avec chaque protéine. Ce pH, qui correspond au point où la protéine est dépourvue de charges électriques, est appelé **pH isoélectrique**. L'absence de charges électriques supprime les forces de répulsion entre les molécules de protéines qui forment des agrégats insolubles. C'est au voisinage de son point isoélectrique que la solubilité de la protéine est la plus faible. Cette propriété est mise à profit pour l'obtention à l'état cristallin de la protéine ;
- la **constante diélectrique** : *cf.* la dénaturation des protéines ;
- les **électrolytes** : dilués, ils ont un rôle solubilisant. L'extraction des protéines d'un broyat sera donc favorisée par l'utilisation d'une solution de chlorure de Na 0.1M plutôt que par de l'eau pure. En revanche, l'utilisation d'électrolytes concentrés entraîne une insolubilisation nommée **relargage**. Les ions minéraux fixent les molécules d'eau. On constate alors une diminution de l'hydratation des molécules de protéines qui s'insolubilisent. À basse température, cette précipitation n'entraîne pas de dénaturation des protéines. Comme la concentration saline nécessaire à la précipitation n'est pas la même pour toutes les protéines, il est possible de réaliser des fractionnements, au moins partiels, des mélanges protéiques, en augmentant progressivement la force ionique du milieu. Le sel le plus couramment utilisé est le sulfate d'ammonium.

Absorption de la lumière

Quand on projette un faisceau lumineux très fin sur une solution, une partie de la lumière est diffusée dans toutes les directions. Le rapport de l'intensité de la lumière diffusée sur celle de la lumière incidente est d'autant plus grand que les particules dissoutes sont plus nombreuses et plus volumineuses et que la direction d'observation est plus proche de celle de la lumière incidente. On peut donc calculer le poids moléculaire d'une protéine en solution.

Ionisation

Les protéines sont des amphotères. Elles sont séparables par chromatographie sur échangeurs d'ions et électrophorèse.

Réactions colorées

Réaction à la ninhydrine (*cf.* ci-dessus).

Réaction du biuret : deux molécules d'urée, portées à chaud, engendrent du biuret. Ce dernier donne, avec des solutions complexées de Cu^{2+}, une coloration violette quantifiable.

$$2\,(NH_2{-}CO{-}NH_2) \longrightarrow NH_3 + NH_2{-}CO{-}NH{-}CO{-}NH_2$$

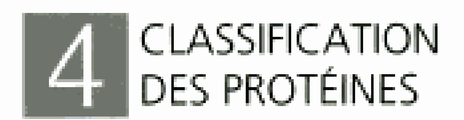
Il en est de même pour les protéines. Elles donnent une coloration analogue due à la présence d'au moins deux groupements CO—NH. Cette réaction est exploitée pour les dosages spectrophotométriques des protéines.

Propriétés immunogènes

Les protéines ont toutes cette propriété. Quand on injecte une protéine d'un individu à un autre, ce dernier réagira en fabriquant un anticorps dirigé contre la protéine. Cette propriété est mise à profit lors d'analyses immunochimiques (*cf.* chapitre « Méthodes d'étude et d'analyse des biomolécules »).

Les protéines sont également responsables de réactions excessives du système immunitaire :

- *réactions allergiques alimentaires* (protéines du lait de vache) ;
- *intolérances aux glutens* (protéines du blé ; maladie cœliaque).



4 CLASSIFICATION DES PROTÉINES

Les protéines sont subdivisées en plusieurs groupes suivant qu'elles sont ou non constituées uniquement par des acides aminés. Si l'hydrolyse conduit à 96-100 % d'acides aminés, il s'agit d'**holoprotéines**. Au contraire, si la fraction protéique est unie à une fraction ne renfermant pas d'acides aminés (ou groupe prosthétique), on aura affaire à des **hétéroprotéines**.

Cette distinction est un peu illusoire : un grand nombre de protéines renferment des traces de substances qui, bien que n'étant pas des acides aminés, font partie intégrante de la structure (métaux stabilisant la structure des enzymes).

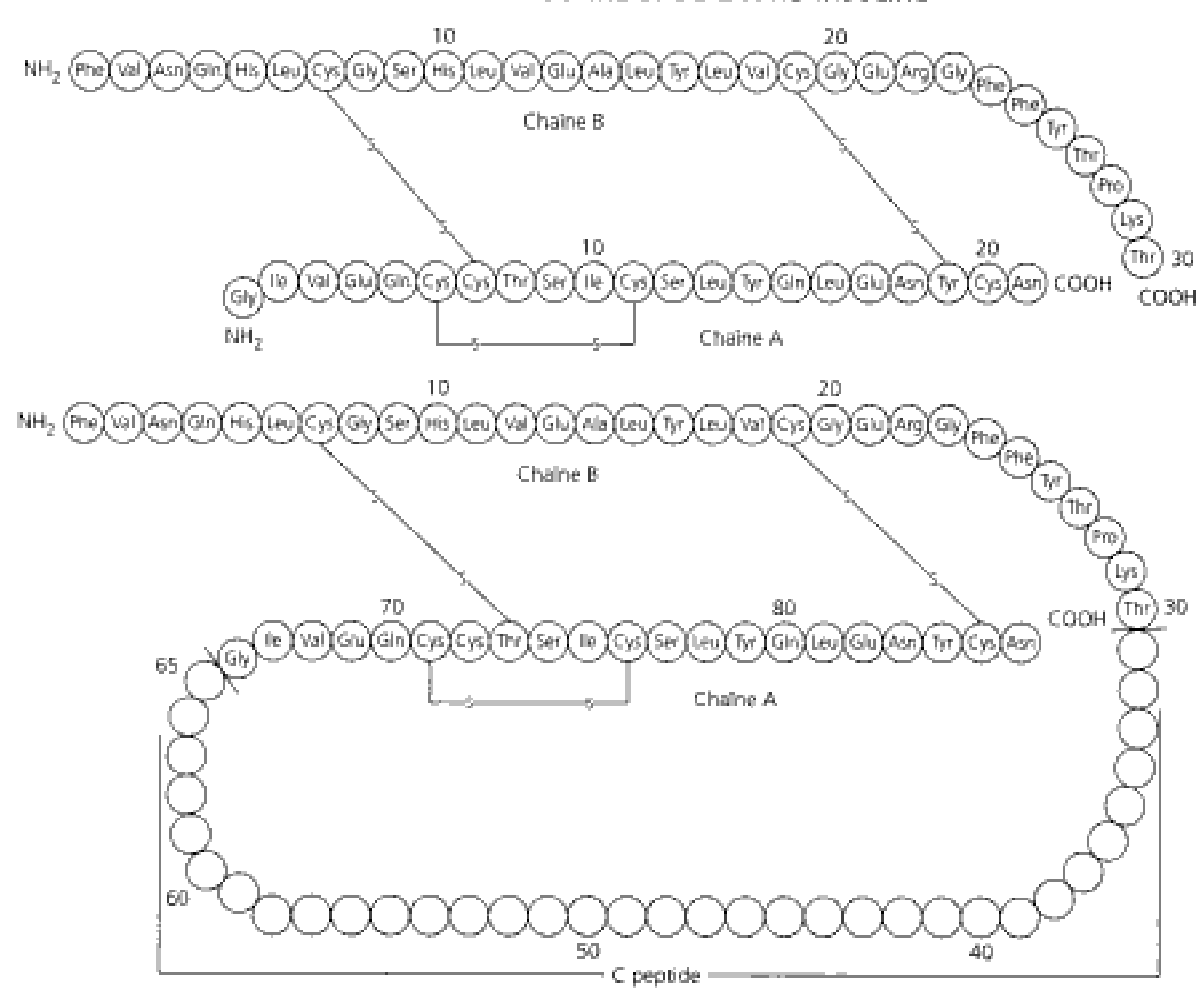
HÉTÉROPROTÉINES

Elles sont composées d'une partie protéine et d'une partie non protéique (= groupement prosthétique). La classification se fait selon la nature du groupement prosthétique :
- glucide : **glycoprotéines** ;
- lipide : **lipoprotéines** (très grosses molécules pouvant contenir plus de 50 % de lipides, HDL, VLDL) ;
- acides nucléiques : **nucléoprotéines** (acides nucléaires : dans le noyau des cellules) ;
- pigments : **chromoprotéines** (très souvent un dérivé tétrapyrolique complexant un métal, exemple de l'hémoglobine et de la myoglobine qui contiennent du fer) ;
- acide orthophosphorique : **phosphoprotéines** (caséines, myosine) ;
- ion métallique : **métalloprotéines** (chélates renfermant Fe, Cu, Zn, Ca...) ;
- **vitamines** : constituent parfois le groupe prosthétique de protéine conjuguée.

HOLOPROTÉINES

Parmi les holoprotéines, nous retrouvons :
- des protéines de structure : le collagène, le fibrinogène, la kératine ;
- des protéines musculaires : l'actine, la myosine ;
- des protéines solubles : l'albumine, les globulines ;
- des protéines végétales : les gluténines et les prolamines, protéines riches en proline et en glutamine, représentent plus de 90 % des protéines du blé. La présence d'une longue séquence de glutamine est à l'origine de l'intolérance au gluten (association de ces deux protéines). Pour limiter les risques, ces protéines sont supprimées dans les premières farines destinées aux nourrissons (Diase®).

STRUCTURES DE L'INSULINE ET DE LA PRO-INSULINE





5 PEPTIDES D'INTÉRÊT BIOLOGIQUE

Voici quelques exemples de peptides jouant des rôles spécifiques dans notre corps.

Hormones

• **Angiotensinogène** et **angiotensine** : la rénine coupe l'angiotensine I (Asp-Arg-Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe-His-Leu) en angiotensine II (Asp-Arg-Val-Tyr-Val-His-Pro-Phe). (*Voir* exercice n° 11.)

• **Hormones hypophysaires (ACTH)**

• **Glucagon**

• **Insuline** : première hormone polypeptidique dont la structure a été connue. La molécule d'insuline est constituée de deux chaînes polypeptidiques : une de 21 acides aminés (chaîne A) et une de 30 acides aminés (chaîne B). Ces deux chaînes sont reliées par deux ponts disulfures A7-B7 et A20-B19. Les insulines administrées aux diabétiques sont obtenues à partir de l'insuline de porc qui ne diverge de celle de l'homme que par un acide aminé : sur la chaîne B en position 30, l'alanine du porc est remplacée par la thréonine (voir schéma p. 51).

Neuromédiateurs

• **Endomorphines** (endorphine, enképhaline) : les uns sont capables d'effets analgésiques, les autres d'effets tranquillisants ou excitants. Tous sont des peptides contenant la séquence du pentapeptide : Met- ou Leu-enképhaline. Ligands endogènes des récepteurs opiacés, la bêta-endorphine a vraisemblablement plus le caractère d'une hormone, tandis que les enképhalines sont accumulées dans certains neurones et libérées lors d'une stimulation :

– Met-enképhaline : Tyr-Gly-Gly-Phe-Met ;
– Leu-enképhaline : Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu ;
– bêta-endorphine : 61 (Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-) 75.

• L'**adrénaline**, la **noradrénaline** et la **dopamine** sont obtenues à partir de la tyrosine.

• Le **GABA** (acide gamma-aminobutyrique) : le GABA est un neuromédiateur inhibiteur. Il est obtenu dans l'organisme à partir de l'acide glutamique.

SYNTHÈSE DU GABA

$HOOC-CH_2-CH_2-CH(COOH)(NH_2) \longrightarrow HOOC-CH_2-CH_2-CH_2-NH_2$

Acide glutamique — Acide gamma aminobutyrique

• La **sérotonine** est obtenue à partir du tryptophane par décarboxylation.

SYNTHÈSE DE LA SÉROTONINE

L-Tryptophane → L-5-Hydroxytryptophane → 5-Hydroxytryptamine ou 5HT sérotonine

Protéines de transport

• **Hémoglobine** : permet le transport de l'oxygène du dioxyde de carbone et du monoxyde de carbone. *Voir* plus haut dans ce chapitre.

• **Glutathion** (tripeptide : gamma-Glu-Cys-Gly). Le glutathion permet le transport des hydrogènes. Il passe facilement et de façon réversible de sa forme oxydée à sa forme réduite et, de ce fait, joue un rôle important comme transporteur d'H_2 (*voir* exercice 8). Le glutathion joue un rôle important dans le métabolisme du paracétamol par le foie. Sa carence mène à un métabolite hépatotoxique (*voir* dans la même collection *Pharmacologie générale et toxicologie : mécanismes d'action*).

LE GLUTATHION

SYNTHÈSE DE L'ADRÉNALINE

Tyrosine

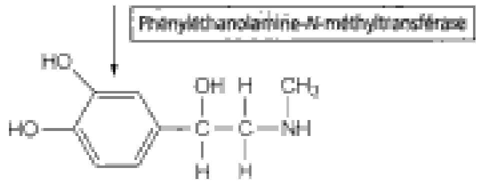
↓ Tyrosine-hydroxylase

Dopa

↓ Dopa-décarboxylase (– COOH)

Dopamine

↓ Dopamine-β-hydroxylase



Autres exemples

- **Protéines fibreuses de soutien, indigestibles** : collagène, élastine, kératine.
- **Protéines contractiles** : myosine, actine.
- **Protéines enzymatiques** : lactase, rénine.
- **Protéines de la coagulation** : thrombine, fibrinogène.
- Récepteurs d'hormones, de neuromédiateurs, de signaux, etc.
- Protéines permettant la translocation d'une molécule au travers d'une membrane ; protéines formant des canaux dans les membranes (canaux calciques).
- **Anticorps** : IgG, IgE, IgM, IgA, IgD.

Certains antibiotiques contiennent des acides aminés de la série D ou de structure cyclique comme la pénicilline ou les glycopeptides (vancomycine : Vancocine® ; teicoplanine : Targocid®).



6 MÉTHODES DE PRÉPARATION ET D'ANALYSE DES PROTIDES

Ce sujet est traité dans le chapitre « Méthodes d'étude et d'analyse des biomolécules ». Un tableau y réunit les différentes techniques utilisées pour les protides.

Voir également le paragraphe sur les propriétés des protéines ayant un intérêt analytique (*cf.* ci-dessus).



7 SORT DES PROTÉINES DANS LE TUBE DIGESTIF

Il est synthétisé dans le schéma suivant.

Estomac : HCL + pepsine
→ *protéines hydrolysées et fragmentées*

Bile - pancréas : *suc*
→ dipeptides et acides aminés

Intestin grêle
→ *absorption des acides aminés et des dipeptides*

Colon : putréfaction des protéines
→ NH_3

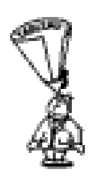


TABLEAU RÉCAPITULATIF DE LA STRUCTURE SPATIALE DES PROTÉINES

Structures	Définitions	Types de liaisons
• Primaire	Enchaînement des acides aminés dans la protéine	Liaison covalente : liaison peptidique
• Secondaire	Structures régulières résultant de la formation de liaisons hydrogènes entre les CO et les NH des liaisons peptidiques	Liaisons hydrogènes (H)
Feuillets plissés	• Liaison hydrogène intercaténaire • Chaînes parallèles ou antiparallèles	
Hélice α ou β	• Liaison hydrogène intracaténaire • Radicaux dirigés vers l'extérieur • Hélice α majoritaire	
• Tertiaire	Repliement de la chaîne sur elle-même Conduit à la structure native de la protéine	Liaison covalente : pont disulfure Liaisons non covalentes : • liaisons hydrogènes • liaisons hydrophobes • liaisons ioniques • forces de van der Waals
• Quaternaire	Pour certaines protéines seulement Association de plusieurs chaînes peptidiques	Liaisons non covalentes : • liaisons hydrogènes • liaisons hydrophobes • liaisons ioniques • forces de Van der Waals

Test de connaissances

Pour répondre à ce questionnaire, les apprenants se référeront au cours.

1. Donner la formule générale d'un acide aminé.

2. Donner la classification des acides aminés en fonction de la nature de leur radical.

3. Définir un ion mixte et le pH isoélectrique.

4. Quel est l'intérêt de la réaction à la ninhydrine ?

5. Définir la liaison peptidique. Écrire l'aspartame : Asp-Phe-1-méthyl ester.

6. Citer quelques peptides présentant un intérêt biologique.

7. Définir la structure primaire d'un peptide.

8. Définir la structure secondaire d'un peptide (feuillets ou hélice α ou β).

9. Définir la structure tertiaire d'un peptide. Citer les liaisons mises en jeu.

10. Définir la structure quaternaire d'un peptide.

11. Définir une protéine fibreuse (ou scléroprotéine). Donner des exemples.

12. Définir une protéine globulaire. Donner des exemples.

13. Définir la dénaturation des protéines. Citer les principaux agents responsables.

14. Qu'est-ce que la réaction du biuret ?

15. Pourquoi les propriétés suivantes présentent-elles un intérêt analytique pour les protéines : solubilité, absorption de la lumière, ionisation, réactions colorées, propriétés immunogènes ?

16. Différencier les holoprotéines des hétéroprotéines. Donner un exemple chacun.

17. Les anticorps sont-ils des protéines globulaires ou fibreuses ?

Exercices

1. Donner la formule semi-développée des acides aminés suivants :
- alanine ou acide α-aminopropanoïque ;
- leucine ou acide 4-méthyl α-aminopentanoïque ;
- sérine ou acide β-hydroxyl α-aminopropanoïque.

2. Soit la glycine de formule semi-développée NH_2—CH_2—COOH de pHi = 6. Sous quelle forme ionique sera-t-elle à pH = 3, pH = 6, pH = 12 ?

3. Soit la thréonine ou acide β-hydroxy-α-aminobutanoïque.
Donner sa formule semi-développée.
Écrire l'équation de la réaction de la thréonine avec l'hydroxyde de sodium Na^+OH^-.
Écrire l'équation de la réaction de la thréonine avec l'acide chlorhydrique H^+Cl^-.

4. Soit la L-Dopa de formule :

$$HO-C_6H_3(-HO)-CH_2-\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}}-COOH$$

La L-Dopa est décarboxylée dans l'organisme en présence d'enzyme (la dopadécarboxylase) et devient alors un neuromédiateur, la dopamine.
Écrire et équilibrer l'équation de cette réaction.

5. La formule générale d'un acide aminé est la suivante :

$$R-\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}}-COOH$$

Donner la formule semi-développée de la valine (Val) et de la sérine (Ser) sachant que :

- R (Val) = $\begin{matrix}CH_3 \\ CH_3\end{matrix}\rangle CH-$
- R (Ser) = CH_2OH

Écrire et équilibrer l'équation de formation du dipeptide « Ser–Val ».

6. Soit les deux acides aminés suivants :
- la glycine de formule semi-développée $NH_2—CH_2—COOH$;
- l'alanine de formule semi-développée $CH_3—CH(NH_2)—COOH$.

Nommer les dipeptides pouvant être formés à partir de deux acides aminés.
Écrire et équilibrer les équations de formation de ces dipeptides.

7. Soit Canderel® comprimés. Il contient de l'aspartame, dipeptide doué de propriétés édulcorantes. Sa formule semi-développée est la suivante :

$$NH_2-\underset{\displaystyle \underset{\displaystyle COOH}{\underset{|}{CH_2}}}{\underset{|}{CH}}-CO-NH-\underset{\displaystyle \underset{\displaystyle C_6H_5}{\underset{|}{CH_2}}}{\underset{|}{CH}}-COOCH_3$$

Entourer la liaison peptidique.
Par hydrolyse, l'aspartame donne deux acides aminés. Écrire et équilibrer l'équation de la réaction.
Donner la formule brute et calculer la masse molaire moléculaire de l'aspartame.
Calculer le nombre de millimoles d'aspartam contenues dans un comprimé de 20 mg.
C = 12 g/mol ; H = 1 g/mol ; N = 14 g/mol ; O = 16 g/mol.

8. Soit le glutathion de formule :

$$NH_2-\underset{\displaystyle COOH}{\underset{|}{CH}}-CH_2-CH_2-CO-NH-\underset{\displaystyle \underset{\displaystyle SH}{\underset{|}{CH_2}}}{\underset{|}{CH}}-CO-NH-CH_2-COOH$$

Écrire et équilibrer l'équation d'hydrolyse du glutathion.
Comment peut-on mettre en évidence les liaisons peptidiques du glutathion ?
Indiquer l'intérêt biologique de cette molécule.

9. Deux protéines X et Y ont respectivement des pHi de 5 et 7. Quel pH choisira-t-on pour les séparer par électrophorèse : pH = 3, pH = 6, pH = 9, pH = 12 ? Justifier.

10. On dispose d'un mélange de trois protéines A, B, C. A a un poids moléculaire de 100 000 daltons, B un poids moléculaire de 50 000 daltons, C de 30 000 daltons. Si on les soumet à une chromatographie d'exclusion, dans quel ordre seront-elles éluées ?

11. L'angiotensine II est un octopeptide qui provoque une vasoconstriction intense des artérioles périphériques, à l'origine d'une augmentation de la tension artérielle. Elle est issue du clivage d'un décapeptide, l'angiotense I, par l'enzyme de conversion.
Les inhibiteurs de cette enzyme de conversion (IEC) sont utilisés dans le traitement de l'hypertension artérielle.
L'angiotensine I a pour formule : Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His Leu.
L'enzyme de conversion va détacher le dipeptide terminal : His Leu.
Écrire la formule du dipeptide terminal His-Leu.
L'enzyme de conversion va permettre l'hydrolyse de la liaison peptidique entre la Phénylalanine (Phe) et l'histidine (His), libérant ainsi l'angiotensine II de formule :
Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe.
Écrire la formule du dipeptide Phe-His et écrire l'équation de l'hydrolyse de ce dipeptide.

12. Répondre par vrai ou faux à ces propositions :
- **a.** le collagène est une protéine globulaire ;
- **b.** la dénaturation d'une protéine lui fait perdre sa structure primaire ;
- **c.** au point isoélectrique, Phi, la solubilité d'un acide aminé est minimale ;
- **d.** l'urée est un agent dénaturant des protéines ;
- **e.** la partie non protéique d'une hétéroprotéine est aussi appelée « aglycone » ;
- **f.** les lipoprotéines sont des holoprotéines ;
- **g.** la liaison peptidique est une fonction amide.

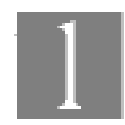
13. Parmi les propositions suivantes, une seule est exacte. Laquelle ?
- **a.** La liaison qui unit deux acides aminés est une liaison dipeptidique.
- **b.** La liaison qui unit deux acides aminés est une liaison osidique.
- **c.** La liaison qui unit deux acides aminés est une liaison peptidique.
- **d.** L'hydrolyse d'un dipeptide libère de l'eau.
- **e.** La réaction du biuret révèle la présence d'un acide aminé.

14. Laquelle est exacte ?
  a. Les acides aminés possèdent tous au moins un carbone asymétrique.
  b. Les acides aminés présentent tous une activité optique.
  c. Un acide aminé peut être mis en évidence par un test à la ninhydrine.
  d. Le relargage correspond à la dissolution complète d'une protéine.
  e. Toute protéine possède une structure I, II, III et IV.

15. Parmi les propositions suivantes, deux sont exactes. Lesquelles ? Les protéines du lait :
  a. sont appelées « caséines » ;
  b. sont appelées « gluten » ;
  c. sont des phosphoprotéines ;
  d. sont des protéines fibreuses ;
  e. sont digérées par notre organisme, grâce à la lactase.

16. Parmi les propositions suivantes, une est exacte. Laquelle ? Les protéines :
  a. l'hémoglobine est une hétéroprotéine impliquée dans le transport et l'approvisionnement des cellules en fer ;
  b. l'actine est impliquée dans la contraction musculaire ;
  c. les protéines sont plus énergétiques que les lipides ;
  d. l'albumine correspond à un enchaînement de lipides et d'acides aminés ;
  e. l'insuline est une glucoprotéine.

LES ACIDES NUCLÉIQUES



INTRODUCTION

Les acides nucléiques sont des macromolécules présentes dans toutes les cellules vivantes. Découverts dans le noyau des cellules eucaryotes, d'où ce nom de nucléiques, ils sont également dans le cytoplasme. On les trouve à l'état libre ou bien combinés à des protéines pour former les **nucléoprotéines**. Chez les eucaryotes, les acides nucléiques contenus dans le noyau sont porteurs de l'information génétique. Ils constituent l'ADN. Ceux du cytoplasme permettent, à partir de l'ADN, de fabriquer les protéines, il s'agit de l'ARN.
Les acides nucléiques sont constitués de l'association de sous-unités : les nucléotides.

2 LES NUCLÉOSIDES ET LES NUCLÉOTIDES

L'hydrolyse ménagée des acides nucléiques conduit à deux types de dérivés :

• les **nucléosides** : hétérosides résultant de l'association d'un sucre (ribose[1] ou désoxyribose) avec une base pyrimidique ou purique. Selon la nature de l'ose entrant dans la composition des nucléosides, on distingue :
– les désoxyribonucléosides : qui contiennent du désoxyribose ;
– les ribonucléosides : qui contiennent du ribose ;

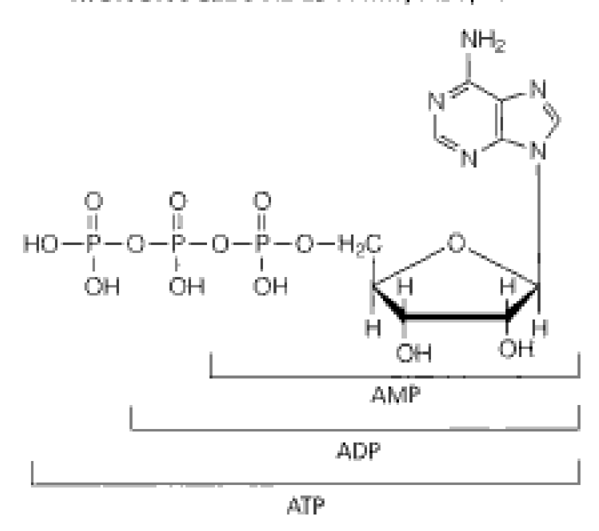
nucléoside = ose + base

• les **nucléotides** : esters phosphoriques des nucléosides sont également nommés « nucléosides monophosphates ». On distingue deux groupes :
– les ribonucléotides ;
– les désoxyribonucléotides.

nucléotide = acide phosphorique + ose + base

On distingue :
• les **mononucléotides** : constitué d'un seul nucléotide (exemples de l'AMP, ADP, ATP) ;
• les **polynucléotides** : constitués de plusieurs nucléotides.
Nous allons étudier plus précisément les deux oses et les bases qui entrent dans la composition des acides nucléiques.

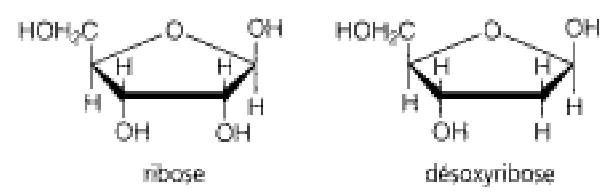
MONONUCLÉOTIDES : AMP, ADP, ATP



LES OSES : RIBOSE OU DÉSOXYRIBOSE

Deux sucres sont possibles :
• le ribose : aldopentose cyclisé sous forme de furanose ;
• le désoxyribose : ribose dépourvu de son oxygène en C2.

FORMULES CHIMIQUES DU RIBOSE ET DU DÉSOXYRIBOSE



ribose désoxyribose

D'après la nature de l'ose entrant dans la composition des acides nucléiques, on distingue :
• les acides désoxyribonucléiques ou **ADN** : contenant le désoxyribose ;
• les acides ribonucléiques ou **ARN** : contenant le ribose.
Toutes les cellules des procaryotes et des eucaryotes contiennent à la fois de l'ADN et de l'ARN, alors que les virus ne renferment qu'un seul type d'acide nucléique, ADN ou ARN, constituant l'agent infectant proprement dit.

(1) Nom provenant des initiales de l'institut où il a été découvert : *Rockfeller Institute of Biochemistry* (RIB ose).

LES BASES AZOTÉES

Bases pyrimidiques

Trois bases pyrimidiques majeures dérivant de la pyrimidine (monocycle azoté) sont trouvées dans les acides nucléiques.

Bases pyrimidiques	ARN	ADN
Cytosine C Hydroxy-2-amino-4-pyrimidine	Oui	Oui
Uracile U Dihydroxy-2,4-pyrimidine	Oui	–
Thymine T Dihydroxy-2,4-méthyl-5-pyrimidine	–	Oui

FORMULES CHIMIQUES DES BASES PYRIMIDIQUES

Pyrimidine Uracile

Cytosine Thymine

Bases puriques

Deux bases puriques majeures dérivent du noyau purine. Selon J. Étienne : « Le terme de purine tire son origine du mot "pus". En 1868, le chimiste suisse Miescher suspectait les noyaux des cellules de jouer un rôle dans l'hérédité. Il recherchait donc des cellules à gros noyaux. C'est ainsi qu'il fut amené à travailler sur les cellules du pus (les leucocytes), qu'il récupérait en lavant des bandages purulents… ».

Ces bases ont pour cycle de base la purine, constituée de deux cycles azotés accolés (*voir* ci-dessous).

L'**adénine A** (amino-6 purine) est présente dans tous les ADN et ARN, mais aussi dans des coenzymes et les nucléotides (ATP). À l'état libre, elle existe dans les matières fécales, les urines, le lait de vache et certains végétaux (thé, café, tabac).

La **guanine G** (amino-2-hydroxy-6 purine) est également dans tous les acides nucléiques. Elle doit son nom au fait qu'elle a été isolée du guano (excréments des gros oiseaux d'Amérique du Sud que l'on importait à la fin du XIXe siècle en Europe comme fertilisant).

Le guano servait d'engrais grâce à la richesse en azote du noyau purique.

FORMULES CHIMIQUES DES BASES PURIQUES

Purine Adénine

Guanine

Nucléoside et nucléotide

Maintenant que nous connaissons les bases et les sucres entrant dans la composition des acides nucléiques, nous pouvons nommer les différents nucléosides et nucléotides possibles (voir *Tableau* ci-dessous).

Bases	Ribonucléotides	Désoxyribonucléotides
Adénine	Adénosine-5'-monophosphate = AMP	Désoxyadénosine-5'-monophosphate = dAMP
Guanine	Guanosine-5'-monophosphate = GMP	Désoxyguanosine-5'-monophosphate = dGMP
Uracile	Uridine-5'-monophosphate = UMP	Désoxyuridine-5'-monophosphate = dUMP
Cytosine	Cytidine-5'-monophosphate = CMP	Désoxycytidine-5'-monophosphate = dCMP
Thymine	Thymine riboside-5'-monophosphate = TMP = thymidine-5'-monophosphate	Désoxythymidine-5'-monophosphate = dTMP

Présentons maintenant les règles de nomenclature à respecter pour les représenter chimiquement :

• les atomes de C des bases sont numérotés 1, 2, 3, etc. ; la numérotation des atomes de C des sucres sera 1', 2', 3', etc. ;

• les nucléosides sont reliés les uns aux autres par un acide phosphorique. Cet acide possède trois acidités. Il lie un nucléoside par estérification entre une de ses fonctions acides et l'hydroxyle porté en 5'. Une autre se liera à l'hydroxyle porté en 3'. Une telle liaison se nomme liaison 3',5'-phosphodiester. Les nucléotides sont toujours décrits de 5' en 3' ;

• à la fin de la molécule, sur le dernier nucléoside, en C5', il reste toujours une fonction acide libre de l'acide phosphorique, d'où le nom d'acide nucléique.

REPRÉSENTATION SCHÉMATISÉE D'UN FRAGMENT D'ADN

3 L'ADN : ACIDE DÉSOXYRIBONUCLÉIQUE (= DNA)

Les ADN sont concentrés dans les chromosomes. Ils sont porteurs de l'information génétique, c'est-à-dire qu'ils définissent la structure primaire des protéines. Ils s'enroulent autour des histones et forment des nucléosomes reliés entre eux par des brins d'ADN.
Les ADN se présentent sous forme bicaténaire, hélicoïdale à chaînes complémentaires antiparallèles.

STRUCTURE PRIMAIRE

Elle correspond à une succession de désoxyribonucléotides. L'ADN peut choisir parmi quatre désoxyribonucléotides principaux : dAMP, dGMP, dCMP et dTMP.

C'est l'ordre dans lequel sont enchaînés ces nucléotides qui est caractéristique de l'acide nucléique. Comme seule la base diverge d'un nucléotide à l'autre, on indiquera uniquement la succession des bases. Par convention, on lira toujours une chaîne d'acide nucléique dans le sens 5'P vers 3'OH. Par souci de simplification, on ne fait figurer que les chiffres 5' et 3' sur les séquences d'ADN.
C'est dans la séquence des bases que réside l'information génétique.

STRUCTURE SECONDAIRE OU STRUCTURE HÉLICOÏDALE

La molécule d'ADN est habituellement formée de deux chaînes de nucléotides : les deux brins d'ADN.
Ces chaînes sont :

• **complémentaires** : la composition en bases des deux brins d'ADN n'est pas identique. À chaque adénine (A) d'une chaîne correspond une thymine (T) sur l'autre chaîne et à chaque guanine (G) d'une chaîne correspond une cytosine (C). Les deux chaînes sont dites « complémentaires ». En face d'une base purique, on ne peut donc associer qu'une base pyrimidique. Cela s'explique par le fait que les bases puriques et pyrimidiques n'ayant pas la même taille, en les mettant face à face, on conservera toujours le même écartement entre les deux brins d'ADN. Les bases sont liées par des liaisons hydrogènes. Pour respecter le nombre de liaisons hydrogènes possible entre les bases, on ne peut qu'associer A avec T et C avec G (3 liaisons hydrogènes). Schématiquement, la double hélice peut être comparée à une échelle : les montants sont l'enchaînement de sucre et d'acide phosphorique, les bases constituant les barreaux de l'échelle (voir *figure* ci-dessous).
De cette façon, le nombre de résidus adénine est égal au nombre de résidus thymine (A = T) et le nombre de résidus guanine est égal à celui de cytosine (G = C). La quantité de bases puriques est donc égale à la quantité de bases pyrimidiques (A + G = C + T). Selon les espèces, on a constaté que la longueur des chaînes varie, mais que le rapport A+T/G+C reste constant pour la même espèce. Il varie d'une espèce à l'autre (*exemple* : homme = 1,52 ; germe de blé = 1,19) ;

• **antiparallèles** : les liaisons des deux chaînes sont orientées en sens inverse si bien que les chaînes se déroulent dans des directions opposées. Elles sont antiparallèles ;

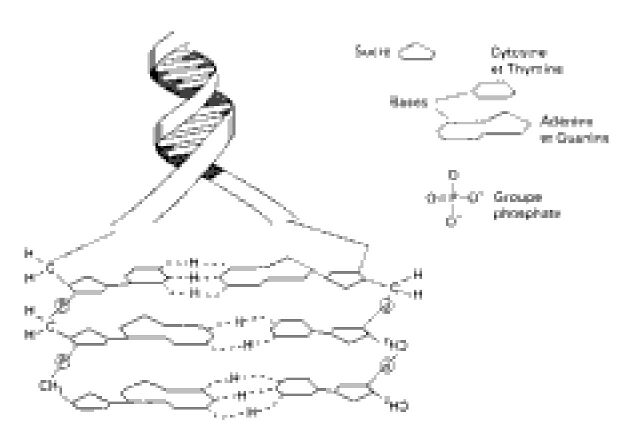
• **hélicoïdales** : la molécule de DNA est composée de deux chaînes polynucléotidiques enroulées autour d'un même axe pour former une **double hélice**, de même que le double escalier en colimaçon du château de Chambord, où l'on peut se croiser sans jamais s'y rencontrer (*cf.* schéma suivant). L'enroulement des chaînes a lieu dans le sens des aiguilles d'une montre : l'hélice est alors dite **droite**. Les bases de chaque brin sont à l'intérieur de l'hélice. Leurs plans sont parallèles entre eux et perpendiculaires à l'axe de l'hélice. La stabilité de l'hélice est due aux liaisons hydrogènes entre les bases, mais également aux interactions hydrophobes entre les bases superposées à l'intérieur de l'hélice.

LIAISONS HYDROGÈNES ENTRE LES BASES PURIQUES ET PYRIMIDIQUES DANS L'ADN

adénine thymine cytosine guanine

La découverte de la structure en double hélice de l'ADN revient aux professeurs Watson et Crick en 1953. Ils reçurent le prix Nobel de physiologie et de médecine en 1962.

LA DOUBLE HÉLICE DE L'ADN



STRUCTURE TERTIAIRE ET ADN CIRCULAIRE

Au sein de la cellule, de nombreuses contraintes sont imposées à la double hélice d'ADN et celle-ci réagit par un surenroulement. L'axe de la double hélice s'enroule sur lui-même, menant à une structure en huit. Cette structure surenroulée (superhélice) s'observe chez les petits ADN circulaires des virus, certains ADN bactériens, mais aussi dans l'ADN des cellules eucaryotes. Dans ces dernières, l'ADN est ancré sur les protéines du chromosome et forme des boucles.
Ce surenroulement confère à la molécule une superstructure lui permettant d'occuper un minimum de place dans la cellule.

QUELQUES EXEMPLES D'ADN

Voyons quelques exemples d'ADN de différentes espèces :
- **ADN viral** : bicaténaire, sauf exception monocaténaire ;
- **ADN bactérien** : l'ADN est libre, non lié aux protéines, replié sur lui-même ;
- **ADN mitochondrial** (ADNmt) : dans les cellules d'eucaryotes. C'est un ADN bicaténaire circulaire et fermé. Il contrôle la synthèse de certaines protéines mitochondriales. Sa composition est différente de l'ADN du noyau ;
- **ADN des noyaux des eucaryotes** : molécules bicaténaires de taille très élevée, liées dans les chromosomes à des protéines (les nucléoprotéines) pour former la **chromatine**. Deux types de protéines sont présents :
  – les histones : protéines basiques ;
  – les protéines « non histones » : à caractère non basique.

Associés à ces protéines, on peut trouver des enzymes (ADN polymérases), de l'ARN et des lipides.

ARN *de transfert* (ARNt)

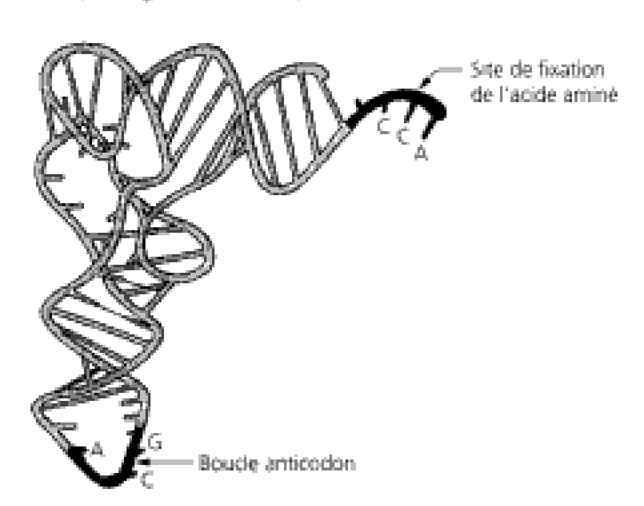
Formés d'un simple brin de 75 à 90 ribonucléotides, ils représentent 16 % des ARN cellulaires.

Ils servent au transfert des aminoacides lors de la biosynthèse des protéines, assurant ainsi la correspondance entre l'information génétique portée par l'ARN messager et les acides aminés contenus dans la protéine synthétisée.

Leur structure est connue, elle est en « feuille de trèfle ». Les branches de cette « feuille de trèfle » se replient dans l'espace pour former une structure en forme de « L ».

Chaque ARNt porte un site de fixation d'un acide aminé sur l'extrémité 3' du brin de nucléotides. Il permet la liaison entre l'ARNt et un acide aminé défini. Un ARNt est spécifique d'un acide aminé et d'un seul (ARNt-Ala, ARNt-Val...) (*voir* figure ci-dessous).

De plus, l'ARNt porte un « anticodon », c'est-à-dire un triplet de nucléotides permettant la reconnaissance et la fixation du codon correspondant de l'ARNm par complémentarité des bases (*voir* figure ci-dessous).



5 LES ACIDES NUCLÉIQUES DES VIRUS

Les virus sont constitués d'une fraction protéique périphérique nommée « capside » et d'un élément central de nature nucléique, constitué soit par de l'ADN, soit par de l'ARN. On ne trouve jamais les deux associés.

Les virus sont très différents les uns des autres par leur taille, leur forme et leur composition chimique. Tous les virus des végétaux contiennent de l'ARN. Les virus des animaux et de l'homme possèdent soit de l'ARN, soit de l'ADN.



6 LA SYNTHÈSE PROTÉIQUE

Toute cellule vivante est capable de synthétiser une chaîne protéique en assemblant des acides aminés isolés présents dans son cytoplasme. Elle a besoin d'une information génétique qui indique la succession des acides aminés. Cette information génétique, appelée **gène**, est portée par l'ADN. Un gène est un fragment d'ADN codant pour une protéine.

L'ADN est une très grosse molécule qui ne peut franchir les pores nucléaires et reste ainsi dans le noyau des eucaryotes, où elle est protégée. Cependant, l'assemblage des acides aminés se fait dans le cytoplasme, au niveau des ribosomes. Pour que la protéine soit synthétisée, il faut que l'information quitte le noyau. Cela est réalisé par l'ARN messager (ARNm).

TRANSCRIPTION DE L'ADN

La transcription de l'ADN correspond au transfert de l'information génétique depuis le noyau jusque dans le cytoplasme sous la forme d'ARNm. Décrivons ce mécanisme.

L'ARNm est synthétisé dans le noyau, à partir du brin d'ADN correspondant, grâce à l'intervention des ARN polymérases : les deux brins d'ADN se séparent ; seul un des deux brins est transcrit ; la synthèse se fait de 5' vers 3' et la transcription respecte la complémentarité des bases selon le *tableau* suivant.

COMPLÉMENTARITÉ DES BASES

Base de l'ADN	Base transcrite de l'ARNm
A	U
G	C
C	G
T	A

Par exemple : la transcription du brin codant d'ADN suivant : « $^{5'}$ATGCGCTAG$^{3'}$ », nous donnera l'ARNm suivant : « $^{3'}$UACGCGAUC$^{5'}$ ».

L'ARNm ainsi obtenu n'est cependant pas directement utilisable. Il doit subir une **maturation**. En effet, afin de limiter le risque d'abîmer les gènes lors d'une éventuelle mutation, les gènes d'ADN ne sont pas exclusivement constitués de séquences codantes. Il y a une succession de séquences codantes (les exons) séparées par des séquences non codantes (les introns). Après avoir transcrit l'ADN, il faut éliminer les introns, puis relier les exons les uns aux autres. Cette étape s'appelle l'**épissage**. Après l'épissage, l'ARNm est alors plus court et plus petit. Il peut aisément sortir du noyau.

TRADUCTION DE L'ARNm EN PROTÉINE

L'information génétique a quitté le noyau, il faut à présent former la protéine à partir de l'ARNm par l'assemblage d'acides aminés. C'est l'étape de la **traduction** : il s'agit bien d'un changement de « langage » puisque, de la succession d'acides nucléiques, la protéine sera constituée d'acides aminés. Cette lecture se fait au niveau des ribosomes qui telle une tête de lecture vont lire les bases de l'ARNm par triplet. Chaque triplet est appelé **codon**.

Le ribosome va progresser le long de l'ARNm en se fixant codon par codon, depuis son extrémité 5' vers l'extrémité 3'. En se fixant sur un codon, le ribosome va, en quelque sorte, lire les nucléotides qui le composent. Chaque codon lu va être traduit en un acide aminé. Un codon code pour un acide aminé.
La traduction débute avec la lecture du codon AUG, appelé **codon initiateur**, qui est reconnu par le ribosome comme étant le signal de début de chaîne. Ce codon AUG code pour la méthionine. Chaque protéine commence ainsi par le même acide aminé : la méthionine qui sera, dans la plupart des cas, supprimée par la suite.
Le ribosome progresse le long de l'ARNm et lit le codon suivant. L'acide aminé correspondant au codon lu sera amené par un ARN de transfert (ARNt) qui est muni d'un aminoacide et d'une séquence de trois bases, complémentaires des bases du codon nommé **anticodon**.

- À un codon ne correspond qu'un seul anticodon.
- À un anticodon ne correspond qu'un seul acide aminé.
- À un acide aminé correspondent plusieurs codons.

Au niveau du ribosome, l'anticodon se fixe au codon par complémentarité des bases. L'acide aminé se détache de l'ARNt et vient se fixer sur la chaîne protéique en construction. C'est l'énergie récupérée lors de la libération de l'acide aminé de son ARNt qui permet à la liaison peptidique de se former. L'ARNt quitte alors le ribosome, et repart à la recherche d'une autre molécule d'acide aminé qui lui est spécifique.
Le ribosome progresse sur l'ARNm et lit le codon suivant. La synthèse de la protéine se poursuit jusqu'à un **codon stop** (ou non-sens), ne codant pour aucun acide aminé. La protéine est alors complète. Le ribosome se détache de la protéine et du brin d'ARNm. La protéine se dirige vers son lieu d'action, et le ribosome sera disponible pour une autre traduction.
La traduction fait correspondre à un codon un acide aminé. Nous passons donc d'un langage d'acides nucléiques à un langage d'acides aminés. Cette correspondance des deux langages, appelée **code génétique**, a été déchiffrée par Holley, Khorana, et Nirenberg en 1968. Le code génétique est représenté par un tableau, portant dans chaque cellule quatre noms d'acides aminés (voir tableau p. 63). Ce code est dit :

- dégénéré : il comporte des redondances ; plusieurs codons codent pour le même acide aminé ;
- universel : il est le même chez tous les organismes vivants.

Reprenons l'exemple précédent qui nous avait donné comme ARNm : UACGCGAUC.
Il est formé de trois codons. Nous allons effectuer la traduction à l'aide du code génétique : la première lettre du codon indique la ligne du tableau, la deuxième indique la colonne et la troisième permet de choisir entre les quatre acides aminés proposés. Cela nous permet donc de faire correspondre un acide aminé à un codon. Nous lisons donc successivement : tyrosine- alanine- isoleucine.
Le code génétique permet de créer des gènes, c'est-à-dire d'utiliser les acides aminés pour recréer les codons correspondants de l'ARNm, et donc l'ADN par complémentarité de bases. Cela a donné naissance au **génie génétique**. Par différentes techniques, on peut introduire un gène dans le génome d'un virus ou d'une bactérie, qui produira ainsi la protéine désirée. Eli Lilly a été la première industrie pharmaceutique à commercialiser l'insuline biogénétique obtenue par cette technique. D'autres protéines sont maintenant obtenues comme l'hormone de croissance... Cela permet d'obtenir des traitements sains, dépourvus de risque pathogène.
Il existe une famille de virus, les rétrovirus (HIV par exemple) dont l'information génétique est portée par l'ARN. Pour pouvoir se multiplier, ils ont besoin d'une enzyme qui transforme leur ARN en ADN. Cette enzyme porte le nom de **transcriptase inverse** puisqu'elle fait le travail inverse de la transcriptase. De nombreux antiviraux ont cette enzyme pour cible. Il s'agit des principaux traitements contre le sida : tous les inhibiteurs de la transcriptase inverse du VIH (INTI) : zidovudine, lamivudine, didanosine...

7 APPLICATION PRATIQUE

Nous voulons montrer dans ce paragraphe comment le seul changement d'une base sur l'ADN peut avoir comme conséquence une pathologie grave.
La drépanocytose ou anémie falciforme est présente dans certaines régions d'Inde, aux Antilles, en Amérique du Sud (surtout le Brésil), chez les Afro-Américains, mais surtout en Afrique intertropicale. Chaque année, 300 000 enfants africains naissent atteints de cette anomalie génétique.
Il s'agit d'une maladie hémolytique chronique, responsable de la formation d'une protéine d'hémoglobine anormale (hémoglobine S, Hb S) qui détruit les globules rouges. Elle entraîne des crises douloureuses et des troubles vaso-occlusifs, signes de graves hémolyses.
C'est une maladie **héréditaire récessive autosomique**. La maladie est due à la substitution de l'adénine par la thymine dans le gène de la β-globine (6e codon : GAG6GTG), porté par le chromosome 11. Cette mutation entraîne le changement d'un acide aminé dans la chaîne protéique : remplacement d'un acide glutamique par une valine (Glu6Val). Ce seul acide aminé différent suffit à provoquer une modification de la conformation tridimentionnelle de la protéine ce qui mène à la déformation du globule rouge en forme de faucille : l'hémoglobine est alors capable de se polymériser lorsqu'elle est désoxygénée. Cela mène à une anémie et à l'obstruction de vaisseaux sanguins, d'où des douleurs intenses et brutales dans une partie du corps.
Ce qui a peut-être contribué à l'expansion de cette pathologie génétique récessive, c'est la certaine protection que semblent présenter les patients atteints vis-à-vis du paludisme : *Plasmodium falciparum* ne se développe pas bien dans les hématies falciformes.

Test de connaissances

Pour répondre à ce questionnaire, les apprenants se référeront au cours.

1. Définir un nucléoside, un nucléotide et un polynucléotide.

2. Citer les trois bases pyrimidiques que l'on trouve dans les acides nucléiques.

3. Citer les deux bases puriques que l'on trouve dans les acides nucléiques.

4. L'ADN : décrire sa structure primaire et sa structure secondaire.

5. L'ARN : donner ses caractéristiques structurales les plus importantes.

6. Citer les différentes classes d'ARN.

7. Pour l'ADN et l'ARN, indiquer :
- les complémentarités structurales ;
- les caractéristiques structurales les plus importantes (structure de la molécule, composition en base et en sucre).

8. Expliquer la synthèse protéique.

9. Définir la traduction et la transcription. Où ont lieu ces deux phases ? À quoi servent-elles ?

10. Parmi les molécules suivantes, indiquer celles qui n'entrent pas dans la composition de l'ARNm :
• ribose ; • thymine ; • adénine ; • désoxyribose ; • guanine ; • cytosine ; • acide phosphorique ; • uracile ; • acide glutamique ; • leucine.

Exercices

1. Le glucagon est une hormone polypeptidique formée de 29 acides aminés, dont la séquence de l'acide aminé 6 à l'acide aminé 9 est la suivante :

.......Phe..Thr..Ser..Asp.....................
1................6.....7.....8.....9.....................29

En utilisant le code génétique, donner la séquence nucléotidique de l'ARNm correspondant à cet enchaînement d'acides aminés.
Donner dans le sens 5'-3' la séquence du brin d'ADN matrice.
Nommer et expliquer brièvement chaque étape.

2. Soit la séquence d'un brin d'ADN matrice :

5'.....ATCGTAC.....3'

Donner la séquence nucléotidique de l'ARNm correspondant dans le sens 5'-3'.
Donner l'enchaînement des acides aminés obtenus.

3. Soit la séquence d'un ARNm :

↓
5'........CGAUGUCAGACC.....3'

À l'issue de la traduction, on obtient un peptide commençant par les acides aminés suivants : Met-Ser-Asp. À quel codon de cette chaîne correspond chaque acide aminé ?
Au cours d'une mutation, le C fléché est transformé en U, donner la séquence peptidique alors obtenue.

4. Soit la séquence d'un ADN bactérien :

5'....TTAAGCTAAGTAATTGCCTACCAT...3'

Donner la séquence de l'ARNm dans le sens 5'-3'.
À l'aide du code génétique, donner la séquence du peptide obtenu.
La streptomycine active sur cette bactérie provoque des erreurs de lecture du code génétique, expliquer brièvement son action.

5. L'Endoxan® est un médicament cytostatique, appartenant aux agents alkylants. Comment peut-il bloquer la multiplication cellulaire ?

6. L'AZT, Rétrovir®, médicament utilisé dans la lutte contre le Sida, est un inhibiteur de la « transcriptase inverse ». Expliquer son rôle.

7. Voici la Met-enképhaline : Tyr-Gly-Gly-Phe-Met. À l'aide des différentes formules des acides aminés, écrire la structure chimique de la protéine.
Écrire la réaction d'hydrolyse de la Met-enképhaline. Équilibrer la réaction.
À l'aide du tableau illustrant le code génétique, écrire la séquence de l'ARN messager correspondant à cette protéine.

8. Parmi les propositions suivantes, laquelle est exacte ? Dans une molécule d'ARNm :
   a. il y a autant de molécules de guanine que de molécules de cytosine ;
   b. il y a autant de molécules de désoxyribose que de molécules de bases azotées ;
   c. il y a autant de molécules de ribose que de molécules d'acide phosphorique ;
   d. il y a autant de molécules d'adénine que de molécules de cytosine ;
   e. il y a autant de molécules de thymine que de molécules de guanine.

9. Parmi les propositions suivantes, laquelle est exacte ? La transcription :
   a. a lieu dans le noyau des procaryotes ;
   b. peut être couplée à la traduction chez les procaryotes ;
   c. se fait grâce au complexe enzymatique de réplication ;
   d. se fait par écartement des deux brins matrices d'ADN, puis assemblage de deux brins d'ARNm, chacun complémentaire d'un brin matrice d'ADN.

10. Parmi les propositions suivantes, laquelle est exacte ? Au cours de la transcription :

groupement hème de l'hémoglobine, c'est-à-dire composé d'un noyau tétrapyrrolique associé à des ions métalliques. Ce sont des chromoprotéines. Elles se trouvent principalement dans les mitochondries. Le plus connu des cytochromes est le P450 intervenant dans des réactions d'oxydoréduction, lors du métabolisme de nombreux médicaments (attention aux interactions médicamenteuses : inducteurs ou inhibiteurs enzymatiques qui modulent l'activité de ces enzymes !).

Nature ionique

D'autres enzymes, parmi lesquelles la tyrosine hydroxylase, l'arginase ou l'anhydrase carbonique, sont simplement associées à un ion métallique comme le zinc, le cuivre, le cobalt, le magnésium ou le molybdène. Ce sont des métalloprotéines. Ces ions stabilisent la structure de la molécule enzymatique et établissent des ponts entre la protéine et le substrat. Si l'on retire l'ion (par addition d'un agent chélateur tel l'EDTA), l'activité enzymatique disparaît.

Coenzyme vitaminique

Certains coenzymes sont dérivés des vitamines hydrosolubles. C'est là le rôle fondamental des vitamines.

- La vitamine B6 est associée à la transaminase sous forme de phosphate de pyridoxal. C'est le coenzyme le plus important dans le métabolisme des acides aminés.
- Les vitamines PP et B2 sont liées à des déshydrogénases : NAD^+, FAD.
- La vitamine B1 : sous forme de pyrophosphate de thiamine, il agit à la fin de la glycolyse et au début du cycle de Krebs, permettant le transfert du radical R—CO.
- La vitamine H (biotine ou B6) est liée à une carboxylase. Elle permet la transformation de l'acide pyruvique en acide oxaloacétique et assure le transfert d'un groupement CO_2.

$$CH_3—CO—COOH \longrightarrow HOOC—CH_2—CO—COOH$$

Coenzyme nucléotidique

Les acides nucléiques sont la dernière famille d'appartenance des coenzymes. Ce sont principalement les nucléotides de l'AMP.

- **NAD (nicotinamide adénine dinucléotide)** : coenzyme d'un nombre important de déshydrogénases, impliquées dans tout le métabolisme. Accepteur d'H_2, il se transforme en $NADH_2$. Le NAD est régénéré dans les mitochondries grâce à la présence d'O_2 et à la libération d'énergie.
- **NADP** : possède un phosphate supplémentaire par rapport au NAD. Utilisé dans la synthèse des acides gras et des stéroïdes.
- **ATP** : L'ATP ou adénosine triphosphate est un nucléotide présent dans toutes les cellules végétales, animales et microbiennes. Transporteur de radicaux phosphoriques, il intervient dans les réactions de phosphorylation et participe à l'activation de certains groupements (sulfate). (*Voir* chapitre sur le métabolisme.)

2 LA CLASSIFICATION DES ENZYMES SELON L'IUB

En 1964, l'International Union of Biochemistry (IUB) a proposé une classification par quatre chiffres. Le premier nombre désigne la classe d'appartenance de l'enzyme, selon le type de réaction qu'elle catalyse. Le deuxième nombre correspond à la sous-classe correspondant au mécanisme de la réaction. Le troisième précise la nature du substrat et le quatrième le numéro d'ordre de l'enzyme dans le groupe.

Enzymes	Action sur le substrat	Exemples
Oxydoréductases (E.C.1)	Réactions d'oxydation et de réduction	Respiration, fermentation, photosynthèse *Lactate déshydrogénase (E.C.1.1.1.27), éthanol déshydrogénase (E.C.1.1.1.1)*
Transférases (E.C.2)	Transfert d'un radical du substrat pour le transporter sur une autre molécule	*L-aspartate carbamyl transférase* (E.C. 2.1.3.2) Transméthylases (déplacent les radicaux méthyles) Transaminases (déplacent les groupements azotés)
Hydrolases (E.C.3)	Réactions d'hydrolyse	Digestion des lipides, protides, glucides • Les protéases dégradent les protéines • Les lipases décomposent les glycérides : *alpha-amylase* (E.C.3.2.1.1)
Lyases (E.C.4)	Extraction et élimination d'un groupement	Décarboxylase de la respiration *Décarboxylases : anhydrase carbonique (E.C.4.2.1.1)*
Isomérases (E.C.5)	Réarrangements intracellulaires (isomérisation par exemple)	Les racémases, les mutases, les épimérases appartiennent à ce groupe *Triose phosphate isomérase (E.C.5.3.1.1)*
Ligases ou synthétases (E.C.6)	Établissent des liaisons C—C ou C—O, C—N et nécessitent l'énergie de l'ATP	*Acétyl-CoA synthétase (E.C.6.2.1.1)*

3 LES CARACTÉRISTIQUES

Les enzymes sont des catalyseurs de réaction et fonctionnent comme tels : elles ne sont pas modifiées et conservent leur structure pendant et après la réaction biochimique. Voyons les caractéristiques des enzymes-catalyseurs.

LES ENZYMES SONT DES CATALYSEURS DE RÉACTIONS

• **Présentes en petites quantités** : retrouvées intactes à la fin de la réaction, les enzymes sont douées d'une forte activité : une seule molécule peut transformer jusqu'à plusieurs millions de molécules de substrat par minute. La décomposition de l'eau oxygénée, par exemple, est cent millions de fois plus rapide en présence de catalase que spontanément.

• **Abaissement de l'énergie d'activation** : la présence des enzymes diminue l'énergie d'activation, sans modifier ni l'état initial ni l'état final. Cette énergie d'activation est généralement fournie par agitation ou par élévation de la température. Elle active les molécules et favorise leur contact pour activer la réaction. Cette énergie nécessaire est abaissée par la présence de l'enzyme : l'énergie d'activation pour l'hydrolyse des protéines est de 20 kcal en présence d'acide chlorhydrique, mais de 12 kcal seulement en présence de trypsine.

• **Les enzymes ne modifient pas l'équilibre de la réaction** : la plupart des réactions biologiques donnent un équilibre A, B, C, D. Les enzymes ne modifient en rien cet équilibre.

$$A + B \rightleftharpoons C + D$$

• **Les enzymes augmentent considérablement la vitesse de la réaction** : l'enzyme attire les substrats sur son site d'action, le mettant en valeur pour faciliter la réaction. Sans enzymes, les molécules se rencontreraient au hasard, donc moins rapidement.

PROPRIÉTÉS ESSENTIELLES DES ENZYMES : SPÉCIFICITÉS MOLÉCULAIRE ET RÉACTIONNELLE

• **Spécificité moléculaire** : une enzyme donnée est capable de reconnaître spécifiquement les composés sur lesquels elle doit agir. Ce composé est nommé « substrat ». L'enzyme l'attire et le complexe. Elle est capable de reconnaître un acide aminé L ou D. Il en est de même pour l'hydrolyse des oses (liaison alpha ou bêta : cellulose ou amidon).

• **Spécificité réactionnelle** : si un substrat peut subir deux réactions différentes, il y aura deux enzymes bien distinctes pour les effectuer. Exemple avec les acides aminés :



$$R{-}CH(NH_2){-}COOH \longrightarrow R{-}CO{-}COOH \text{ par transaminase}$$
$$\longrightarrow R{-}CH_2{-}NH_2 \text{ par décarboxylase}$$

Cette spécificité étroite de reconnaissance du substrat est due au fait qu'il existe sur la surface de la protéine enzyme un récepteur de forme diverse qui seul sera complémentaire du substrat. C'est le site actif. Il est déterminé par la structure III ou IV de la protéine. Les substrats viennent s'y loger. Dans les enzymes à coenzyme, le site actif est constitué par le coenzyme lui-même. L'enzyme oriente ainsi le substrat, masquant certains groupements et en activant d'autres.

4 L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE

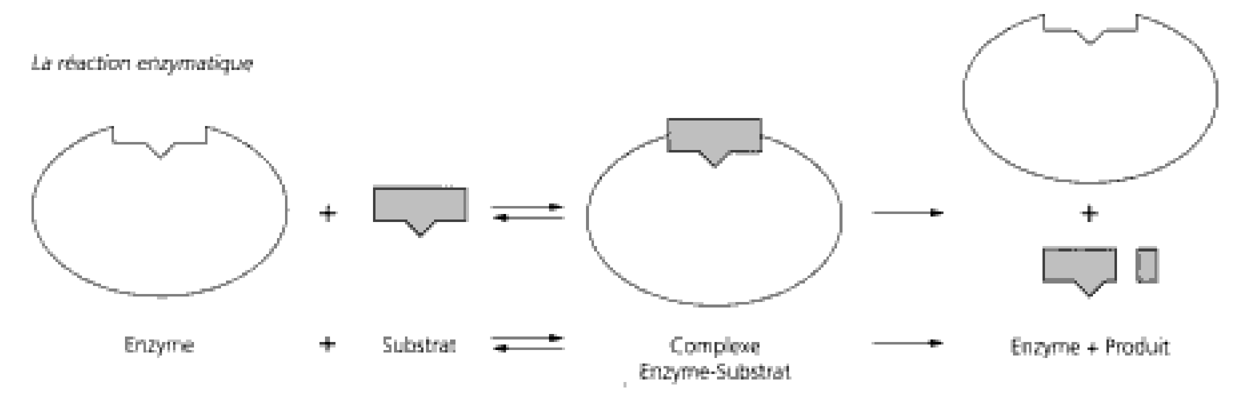
DÉFINITION

Une enzyme E qui fonctionne normalement se combine à son substrat S, le transforme en un produit P, lequel est ensuite libéré. L'enzyme retrouve alors sa structure primitive.

$$S + E \longrightarrow E{-}S \longrightarrow P + E$$

La vitesse de cette réaction dépend de la concentration du produit qui augmente, de la concentration du substrat qui diminue, alors que celle de l'enzyme reste constante. La mesure de ces variations, en fonction du temps, sert à déterminer une vitesse de réaction. C'est l'étude de la cinétique de la réaction enzymatique. Elle définit l'activité enzymatique.

LA DÉFINITION DE L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE



FACTEURS PHYSIQUES INFLUANT L'ACTIVITÉ ENZYMATIQUE

Le pH et la température peuvent influencer la vitesse d'une réaction enzymatique. En général, l'élévation de température augmente la vitesse de réaction (par accroissement de l'agitation moléculaire). Mais ces deux facteurs, lorsqu'ils sont portés vers des valeurs extrêmes, risquent de dénaturer les enzymes, donc de compromettre l'activité. Pour chaque couple enzyme-substrat, il existe ainsi des valeurs optimales de température et de pH permettant d'obtenir le meilleur rendement :

- la majorité de nos enzymes ont une température optimale vers 37 °C ;
- la valeur du pH est plus variable d'une enzyme à l'autre : le pH de la pepsine gastrique est compris entre 1,5 et 2,5 ; celui de l'arginase du foie entre 8 et 9 ; pour la trypsine pancréatique, c'est à pH8 que son fonctionnement est optimal.

En respectant le pH optimal ainsi que la température optimale, la réaction enzymatique peut se faire dans les meilleures conditions. Si ces valeurs ne sont pas respectées, l'enzyme risque d'être dénaturée ou inactivée.

Cela explique que, pour être conservé, un échantillon doit subir parfois un léger chauffage ou être conservé au froid. On cherche ainsi à dénaturer ou à inactiver les enzymes contenues dans cet échantillon. Cela va le maintenir dans l'état où il était au moment du prélèvement (*voir* chapitre des méthodes d'études et d'analyse des biomolécules).

Un autre facteur conditionne le bon fonctionnement des enzymes : l'absence de produits (détergents, solvants organiques) qui dénaturent la nature protéique de l'enzyme.



5 LA RÉGULATION ENZYMATIQUE

RÉGULATION ENZYMATIQUE D'ORIGINE GÉNÉTIQUE

La caractéristique des êtres humains est de s'adapter aux conditions extérieures. Cela est possible grâce à la fluctuation de l'expression des gènes codant pour la synthèse des enzymes.

Mécanisme

Lorsque l'on ensemence un milieu de culture avec des micro-organismes, ceux-ci sont capables de développer un système enzymatique leur permettant de vivre et de se multiplier dans ce milieu. La présence dans le milieu de certaine substance, comme un β-galactoside par exemple, permet la synthèse du système enzymatique en agissant sur le gène codant pour ces enzymes. Ce phénomène est nommé « **induction enzymatique** ». Ce facteur augmente la synthèse de l'enzyme.

À l'inverse, des substances sont capables de s'opposer à la synthèse des enzymes en perturbant le gène codant pour cette synthèse. Ce phénomène correspond à la « **répression enzymatique** ». Ce facteur diminue la synthèse de l'enzyme. Par exemple, lorsque l'on met en culture des levures dont la seule source de sucre est le glucose, elles ne fabriquent pas les enzymes permettant la dégradation du saccharose ou du maltose. Les gènes codant pour ces enzymes sont réprimés par un signal chimique provenant de la levure (répression). En revanche, un autre signal chimique déclenche la mise en activité des gènes codant pour les enzymes responsables de la dégradation du glucose (induction).

Il en va de même pour les enzymes hépatiques. L'état post-prandial entraîne une hyperglycémie et la sécrétion d'insuline. Cela induit la synthèse des enzymes impliquées dans le métabolisme du glucose : glucokinase, pyruvate kinase, glucose-6-phosphate déshydrogénase…

Le retour à l'état de jeûne favorise l'induction d'enzymes libérant le glucose : glucose-6-phosphatase, fructose-1,6-biphosphatase… et la répression des enzymes précédentes. Ces mécanismes ne se mettent en place qu'au bout de quelques jours.

Induction des enzymes microsomiales

Certaines substances chimiques, médicamenteuses ou alimentaires, provoquent l'induction enzymatique des enzymes du métabolisme hépatiques (en particulier les cytochromes P450) (*voir* « Pharmacologie et Toxicologie : mécanismes fondamentaux »). En augmentant la quantité d'enzymes hépatiques, ils augmentent les biotransformations abaissant la concentration plasmatique des principes actifs métabolisés par les mêmes enzymes, d'où un risque d'échappement thérapeutique.

L'alcool en administration chronique, le phénobarbital, la rifampicine, la phénytoïne, la carbamazépine, par exemple, sont des inducteurs enzymatiques.

Un médicament d'origine végétale, le millepertuis (*Hypericum perforatum*) est un inducteur enzymatique susceptible d'abaisser la concentration plasmatique de médicaments comme la théophylline ou la ciclosporine.

RÉGULATION ENZYMATIQUE D'ORIGINE EXOGÈNE

Certains effecteurs enzymatiques modifient la cinétique de la réaction enzymatique, sans agir sur la synthèse de ces enzymes. Ce sont des inhibiteurs ou des activateurs qui agissent sur l'enzyme directement. Plusieurs catégories d'effecteurs enzymatiques peuvent être décrites selon leur mode d'action.

Inhibition réversible

Inhibition compétitive

Les inhibiteurs compétitifs sont des composés dont la structure ressemble à celle du substrat. Ils se combinent à l'enzyme en se fixant sur le site actif à la place du substrat. Leur affinité envers ce site est parfois plus élevée que celle du substrat. Une compétition apparaît alors entre l'inhibiteur et le substrat pour la fixation sur le site de liaison de l'enzyme.

Activation et inhibition allostérique

Les effecteurs allostériques se fixent sur des sites allostériques, distincts du site actif, par des liaisons non covalentes. Cela produit une modification de la conformation de l'enzyme et une variation de l'activité de l'enzyme. Ils peuvent être activateurs ou inhibiteurs.

L'activateur va faciliter la fixation du substrat sur le site actif en modifiant la conformation de celui-ci. L'inhibiteur, quant à lui, empêchera cette fixation.

Ce type de régulation est très fréquent dans le métabolisme. Le produit terminal de la voie métabolique sert d'inhibiteur allostérique, la première enzyme spécifique en étant l'activateur.

Par exemple, dans le cycle de Krebs (*voir* chapitre « Métabolisme et énergie ») :

- la citrate synthétase du cycle de Krebs est activée par l'ADP mais inhibée par le NADH, l'ATP et le citrate.

Elle est donc respectivement inhibée par le pouvoir réducteur, la charge énergétique, et le produit de la réaction qu'elle catalyse (inhibition allostérique) ;

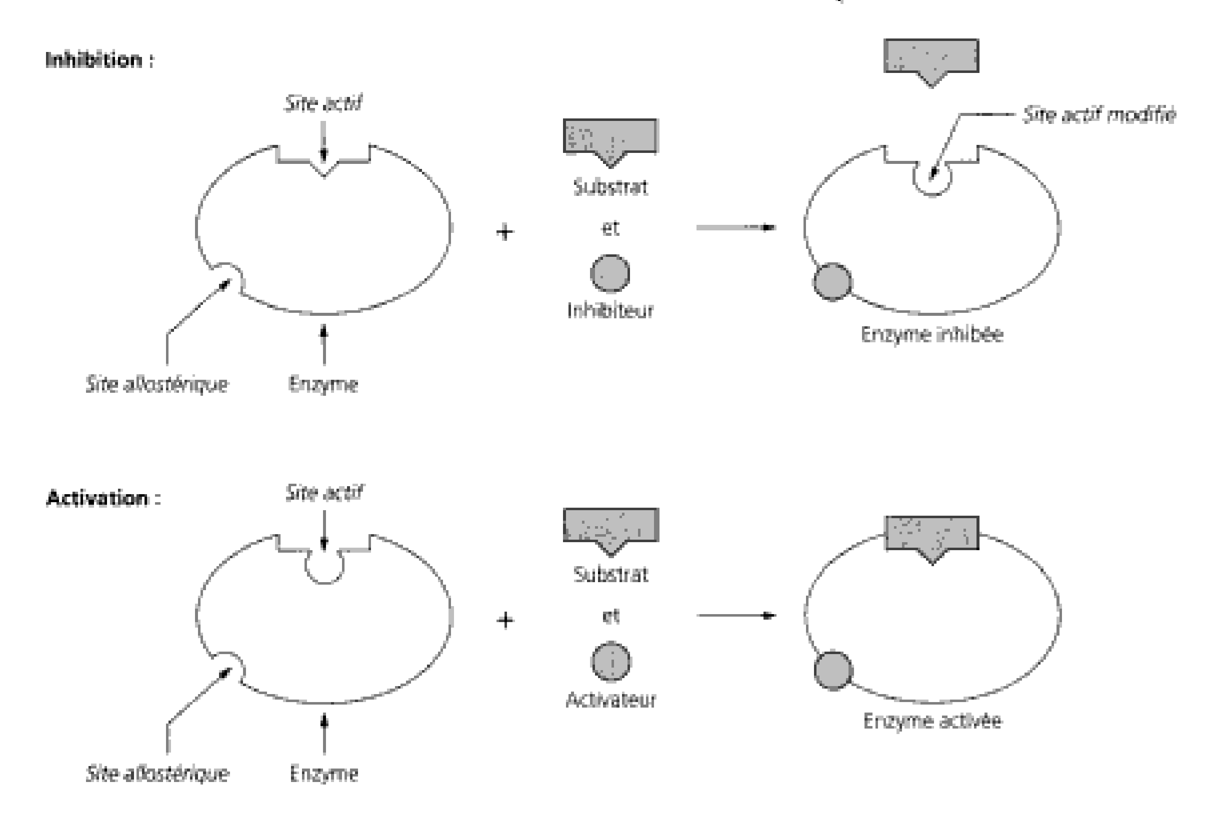
- l'isocitrate déshydrogénase est activée par le calcium, l'ADP, et inhibée par le NADH et l'ATP ;
- l'alpha-cétoglutarate déshydrogénase est activée par le calcium et inhibée par le NADH, l'ATP, et son produit le succinyl-CoA (inhibition allostérique).

Inhibition des enzymes microsomiales

Certains médicaments inhibent les enzymes du métabolisme hépatique (en particulier les cytochromes P450). Leur coadministration avec des médicaments métabolisés par ces enzymes mène à la diminution de leur dégradation et à un risque de surdosage (voir *Pharmacologie et toxicologie : mécanismes fondamentaux*).

Voici quelques exemples d'inhibiteurs enzymatiques : l'alcool en prise aiguë, la cimétidine, la ciclosporine, le diltiazem, la fluoxétine, l'indinavir, le ritonavir…

INHIBITION ET ACTIVATION ALLOSTÉRIQUE



MÉTABOLISME ET ÉNERGIE

Le métabolisme est l'ensemble des processus qui permettent au monde vivant d'acquérir et d'utiliser l'énergie pour ses différentes fonctions.

Le monde vivant peut se diviser en deux grandes catégories :

- les organismes **autotrophes** sont doués d'un métabolisme indépendant : ils sont capables de vivre aux dépens du monde inorganique, à condition de trouver une source d'énergie. Il y a deux sources d'énergie possible, la lumière et celle produite par les réactions chimiques :
  – les organismes **phototrophes**, appartenant au monde végétal, utilisent l'énergie lumineuse, qui, par l'intermédiaire d'un pigment, la chlorophylle, permet la synthèse de matières organiques au cours de la photosynthèse ;
  – les organismes **chimiotrophes** (plantes, champignons, bactéries nitrifiantes ou sulfureuses, ferrobactéries) utilisent l'énergie libérée lors de diverses réactions d'oxydoréduction de composés minéraux comme l'azote ou le soufre apportés par des engrais ;
- les organismes **hétérotrophes** ne peuvent vivre qu'en oxydant des matières organiques (glucides, lipides, protides…) provenant des autotrophes. Les hommes et les animaux sont des êtres hétérotrophes.

Il faut également distinguer deux métabolismes : le **métabolisme de base** et le **métabolisme en activité** :

- le métabolisme de base représente la dépense énergétique minimum de l'organisme au repos absolu, à jeun depuis douze à dix-huit heures, et maintenu à une neutralité thermique d'environ 20 degrés. Il correspond aux dépenses incompressibles, c'est-à-dire celles qui permettent d'assurer les activités vitales de l'organisme : celles du cerveau, du cœur, la respiration, les sécrétions glandulaires, les synthèses de base, le tonus musculaire ;
- le métabolisme en activité fait intervenir en outre le travail musculaire, la thermorégulation, la digestion, les synthèses spécifiques liées à la croissance, la grossesse et l'allaitement.

Ces processus métaboliques font intervenir des réactions de dégradation (le **catabolisme**) et des réactions de synthèse (l'**anabolisme**).

Les réactions du catabolisme sont dites **exergoniques** : elles sont spontanées et libèrent de l'énergie. Elles sont réalisées dans les chaînes de dégradation des nutriments ou **voies métaboliques**.

Les réactions d'anabolisme sont dites **endergoniques** : elles nécessitent obligatoirement un apport d'énergie pour se dérouler.

La présence simultanée de ces deux types de réaction dans la cellule montre un fait essentiel : l'énergie libérée par les réactions exergoniques permet la réalisation des réactions endergoniques qui utilisent cette énergie. On définit ainsi le **couplage énergétique** comme le transfert d'énergie d'une réaction qui en libère, vers une réaction qui en consomme. Il faut donc que la quantité d'énergie libérée soit au moins égale à celle consommée.

Ces deux types de réaction nécessitent la présence d'un intermédiaire commun, qui capte l'énergie de la réaction exergonique et la redonne à la réaction endergonique.

Cet intermédiaire c'est l'**adénosine triphosphate** ou **ATP**.



1 L'ATP

STRUCTURE

L'ATP est un ribonucléotide présent dans toutes les cellules animales, végétales et microbiennes. Il est commercialisé sous le nom d'Atépadène® (prescrit dans les asthénies et les douleurs dorsales). Il constitue la réserve énergétique de l'organisme. Il est composé d'une base azotée (l'adénine), d'un pentose (le ribose), et de trois groupements phosphates enchaînés. Transporteur de radicaux phosphoriques, il intervient dans les réactions de phosphorylation et participe à l'activation de certains groupements (sulfates).

Nous rappelons la structure de l'ATP dans le schéma suivant :

STRUCTURE DE L'ATP

L'ATP FOURNISSEUR D'ÉNERGIE

Voyons plus précisément son rôle de fournisseur d'énergie.

Une enzyme spécifique : l'ATPase détache le groupement phosphate terminal en libérant l'ADP (adénosine diphosphate) et le phosphate inorganique P_i. Or la liaison phosphate rompue contient une grande quantité d'énergie (30,5 kJ/mol).

$$ATP + H_2O \longrightarrow ADP + P_i + 30{,}5\ kJ/mol$$

Cette énergie peut être exploitée par une réaction endergonique. Par exemple, l'estérification du glucose (Glc) en un intermédiaire clé du métabolisme, le glucose-6-phosphate (Glc—6—P).

$$Glucose + ATP \longrightarrow Glc{-}6{-}P + ADP$$

$$\text{Oxydant} + n\ e^- \longleftrightarrow \text{réducteur}$$

Des enzymes spécifiques, les déshydrogénases, catalysent les réactions d'oxydation. Si nous représentons le substrat énergétique oxydé par la lettre X, et le substrat énergétique réduit par XH_2, nous pouvons écrire :

$$XH_2 \longrightarrow X + 2H^+ + 2\ e^-$$

LES TRANSPORTEURS

Les électrons libérés sont captés par des molécules particulières : les transporteurs.
Exemples de transporteurs :
• le **NAD** (nicotinamide-adénine-dinucléotide) : coenzyme d'un nombre important de déshydrogénases. Il provient de la vitamine PP (acide nicotinique) qui en est le précurseur. Accepteur d'hydrogène H_2, il se transforme en $NADH_2$. Le NAD est ensuite régénéré dans les mitochondries lors de la respiration cellulaire que nous verrons par la suite. Le **NADP** possède un phosphate supplémentaire par rapport au NAD. Il est utilisé dans la synthèse des acides gras et des stéroïdes.
• Citons également le **FAD** (flavine-adénine-dinucléotide), accepteur d'hydrogène H_2, et issu de la biotransformation de la vitamine B2 (riboflavine).
Il existe deux voies métaboliques principales : les **fermentations,** le plus souvent anaérobies, et la **respiration mitochondriale,** aérobie.
La première étape de ces deux voies se déroule dans le cytoplasme : c'est la **glycolyse**.



3 LA GLYCOLYSE

La glycolyse consiste en une chaîne anaérobie de réactions qui se déroulent dans le cytoplasme.
Elle permet à une cellule d'extraire de l'énergie directement du glucose. Peu rentable globalement en énergie, elle est cependant très efficace car très rapide ; elle permet la contraction musculaire. Elle est également le point de départ d'autres chaînes métaboliques : par exemple, le glycogène (chez l'homme et l'animal), l'amidon et la cellulose (chez le végétal) sont synthétisés à partir de glucose-6-phosphate (Glc6P) qui est le premier métabolite de la chaîne.
Nous n'étudierons ici que le bilan de la glycolyse : l'oxydation de glucose donne finalement deux molécules d'acide pyruvique, ainsi que deux molécules d'ATP et deux molécules de transporteurs réduits.

$$C_6H_{12}O_6 + NAD + 2\ ADP + 2\ P_i \longrightarrow$$
$$2\ CH_3\text{—}CO\text{—}COOH + 2\ NADH_2 + 2\ ATP$$

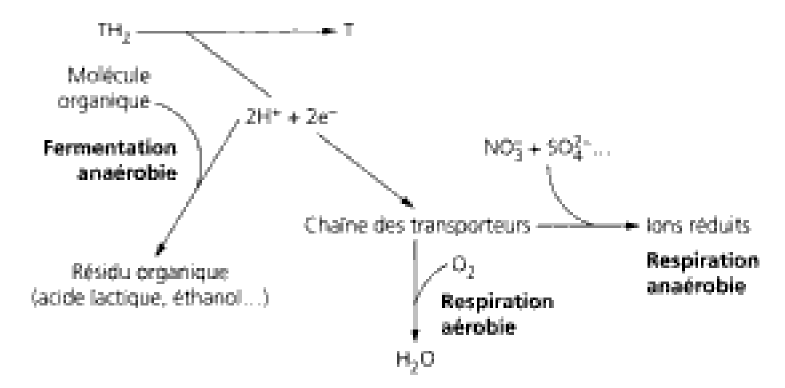
Au pH physiologique, l'acide pyruvique se trouve sous forme ionisée d'ion pyruvate $CH_3\text{—}CO\text{—}COO^-$.
Le pyruvate peut encore, potentiellement, libérer beaucoup d'énergie.
La dégradation du pyruvate va ensuite faire intervenir une chaîne d'oxydoréductions permettant la réoxydation des coenzymes réduits $NADH_2$ et $FADH_2$. Le transport des électrons d'accepteur en accepteur, générateur d'énergie, fera intervenir différents accepteurs d'électrons.

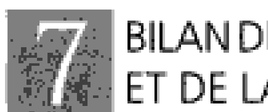


4 RÉOXYDATION DES TRANSPORTEURS

Si nous symbolisons les coenzymes transporteurs NAD et FAD par la lettre T, nous pouvons résumer les différents processus de réoxydation des transporteurs par le schéma général suivant :

LES DIFFÉRENTS PROCESSUS DE RÉOXYDATION





BILAN DES FERMENTATIONS ET DE LA RESPIRATION

BILAN DE LA RESPIRATION

Au cours de la respiration, la dégradation d'une molécule de glucose conduit à la formation de 38 molécules d'ATP : deux proviennent de la glycolyse, et 36 proviennent de la réoxydation des transporteurs dans la mitochondrie.
Écrivons l'équation globale de la dégradation du glucose par la respiration cellulaire :

$$C_6H_{12}O_6 + 6\ O_2 \longrightarrow 6\ CO_2 + 6\ H_2O$$

L'énergie libérée au cours de cette voie métabolique est de 2 870 kJ/mol.

BILANS COMPARÉS DES FERMENTATIONS ET DE LA RESPIRATION

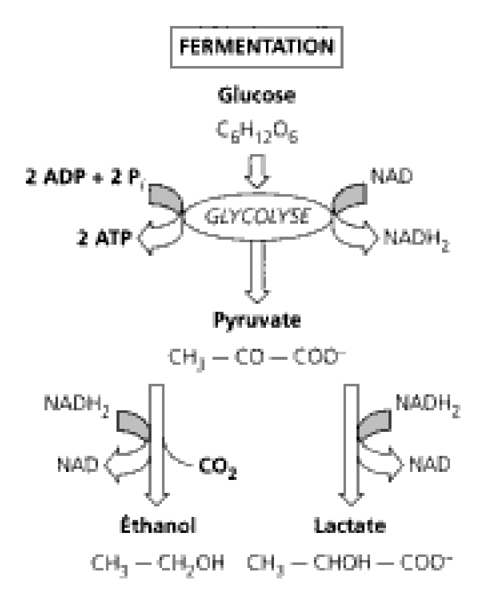
Les organigrammes suivants résument les processus se déroulant au cours de ces deux voies métaboliques.
Nous constatons que le point de départ commun est la glycolyse, qui aboutit à la formation du pyruvate (deux molécules de pyruvate par molécule de glucose).
Puis la suite des réactions diffère selon l'absence (fermentation) ou la présence (respiration) d'oxygène.

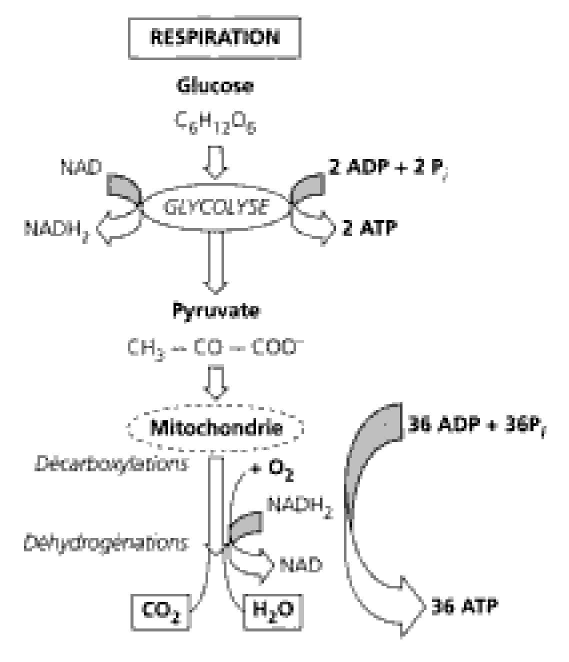
Le *tableau* suivant permet de comparer ces deux voies métaboliques sur le plan des substrats, des résidus et de la synthèse d'ATP.

	Fermentation	Respiration
Substrat	Pyruvate	Pyruvate
Résidus	Organiques : lactate, éthanol	Minéraux : CO_2 et H_2O
ATP reconstitué au total	2 ATP	38 ATP

Nous constatons que la voie aérobie, ou respiration, est la voie majeure de reconstitution du stock d'ATP.
Elle permet donc de fournir une grande quantité d'énergie, grâce à l'hydrolyse de l'ATP.
Mais la respiration est limitée par l'approvisionnement des cellules en oxygène, qui est lié aux possibilités des appareils respiratoire et circulatoire.
Si les besoins énergétiques sont importants, la fermentation lactique prend le relais, produisant de grandes quantités d'acide lactique.
L'acide lactique est transporté par la circulation générale vers le foie, et sert de substrat à la néoglucogenèse (formation de glucose à partir de précurseurs non glucidiques tels que le pyruvate, le lactate, le glycérol et la plupart des acides aminés). Le dépôt d'acide lactique en excès est source de fatigue musculaire et de crampes.

FERMENTATION ET RESPIRATION

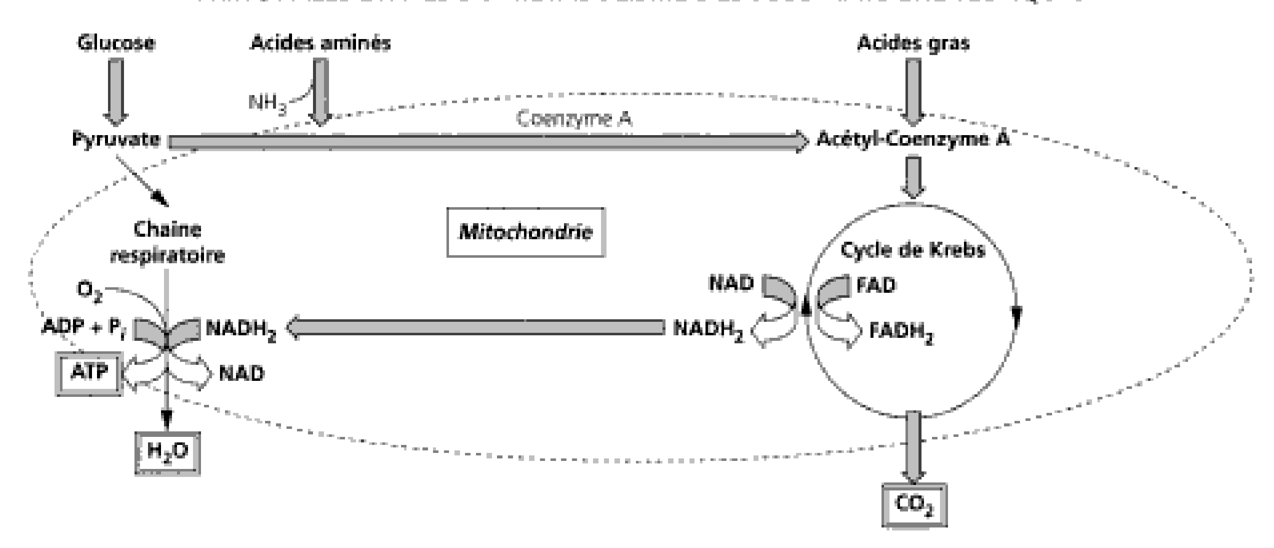




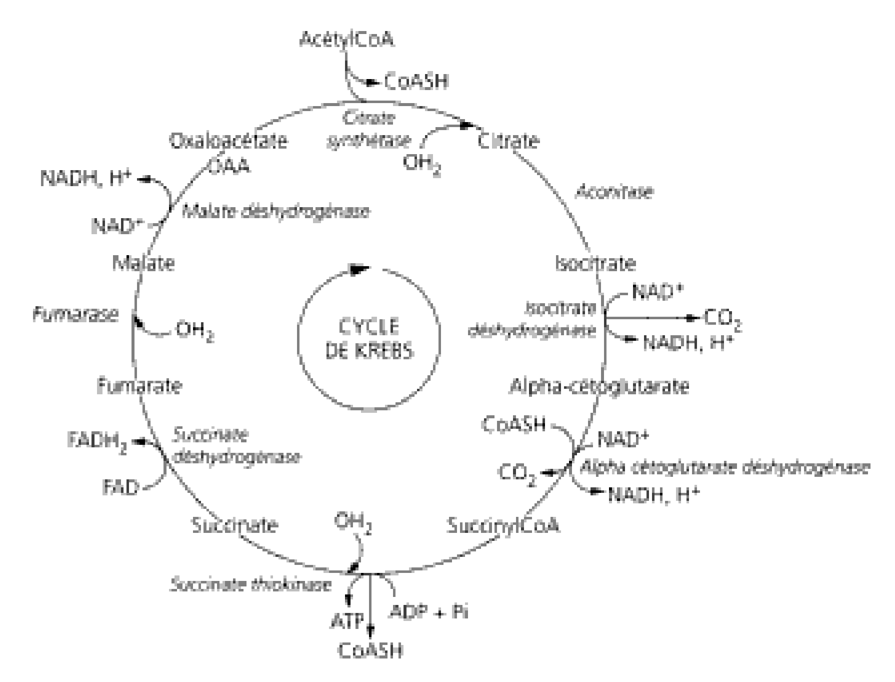
8 UTILISATION ÉNERGÉTIQUE DES NUTRIMENTS

La source première d'énergie provient de l'apport alimentaire.
La digestion dégrade les aliments en nutriments : oses, acides aminés, glycérol, et acides gras.
Les glucides sont utilisés comme source principale d'énergie.
Les oses obtenus lors de leur digestion se transforment tous en glucose.
La dégradation des acides gras libère l'acétylcoenzyme A, $NADH_2$ et $FADH_2$. L'acétylcoenzyme A est ensuite oxydé au cours du cycle de Krebs.
La dégradation des protides libère des produits azotés éliminés dans l'urine sous forme d'urée. Cette perte de matière organique correspond à une perte énergétique pour l'organisme.
Un excès d'acide urique mène à une pathologie inflammatoire, la goutte, due à l'excès d'apport et/ou à un défaut d'élimination.
La plupart des acides aminés sont ensuite dégradés pour être convertis en intermédiaires métaboliques importants qui peuvent être ensuite convertis en glucose ou oxydés par le cycle de Krebs (néoglucogenèse).
Le *schéma* suivant résume les principales étapes du catabolisme des substrats énergétiques. Nous observons que l'étape finale génératrice d'énergie du catabolisme est le cycle de Krebs suivi de la respiration cellulaire.

PRINCIPALES ÉTAPES DU MÉTABOLISME DES SUBSTRATS ÉNERGÉTIQUES



CYCLE DE KREBS



Source : Wikipédia.

Test de connaissances

Pour répondre à ce questionnaire, les apprenants se référeront au cours.

1. Définir les termes « autotrophie », « hétérotrophie », « phototrophie » et « chimiotrophie ».

2. Définir sur le plan énergétique : anabolisme et catabolisme.

3. Définir une liaison riche en énergie. Préciser le r™le de l'ATP dans le transfert de l'énergie.

Exercices

1. L'utilisation des protides pour synthétiser le glucose s'appelle :
   - a. la glucuroconjugaison ;
   - b. la glycogénolyse ;
   - c. la néoglucogenèse ;
   - d. l'hélice de Lynen.

2. La glycolyse permet de transformer une molécule de glucose en :
   - a. une molécule de fructose ;
   - b. deux molécules de pyruvate ;
   - c. deux molécules d'acétyl-CoA.

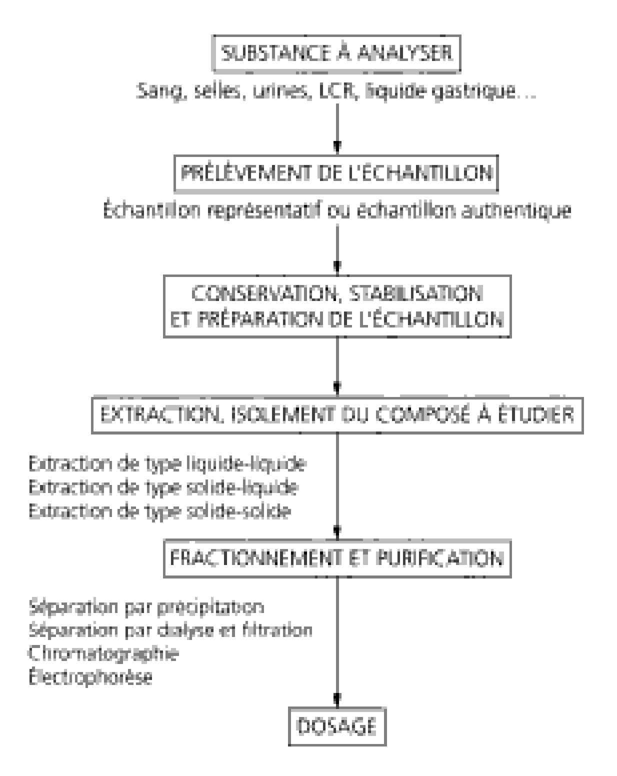
3. La glycolyse produit :
   - a. une molécule d'ATP ;
   - b. deux molécules d'ATP ;
   - c. trois molécules d'ATP ;
   - d. quatre molécules d'ATP.

4. Cocher les bonnes réponses :
   - a. dans la respiration mitochondriale, c'est l'hydrogène qui est l'accepteur final des électrons ;
   - b. la chaîne respiratoire est une suite d'oxydoréductions ;
   - c. une réaction endergonique libère de l'énergie ;
   - d. l'hydrolyse de l'ADP produit de l'ATP ;
   - e. le cycle de Krebs a lieu dans la matrice mitochondriale.

5. Répondre par vrai ou faux à ces affirmations :
   - a. la dégradation des molécules organiques s'appelle le catabolisme ;
   - b. l'anabolisme permet de reconstituer le stock d'ATP ;
   - c. la fermentation lactique consomme de l'oxygène ;
   - d. la glycolyse précède la fermentation lactique ;
   - e. les hétérotrophes sont capables de synthétiser leurs matières organiques en dégradant les éléments chimiques minéraux du milieu.

MÉTHODES D'ÉTUDE ET D'ANALYSE DES BIOMOLÉCULES

L'étude et l'analyse des molécules biochimiques posent deux questions fondamentales : quel matériel ? Quelle technique ? En effet, l'objet de l'étude étant l'organisme vivant, on peut envisager de travailler sur un animal entier, sur un organe, sur des cellules isolées ou bien sur des bactéries, virus, levures…
Ce matériel d'étude est l'**échantillon**, celui-ci doit être prélevé, stabilisé, puis conservé. À partir de cet échantillon, on pourra alors extraire et isoler les biomolécules qui seront étudiées et dosées. Les techniques utilisées font appel à la physique. La plupart d'entre elles ont été étudiées par les élèves préparateurs en cours de galénique. C'est pourquoi nous n'en donnerons ici que la définition et le principe.
La figure ci-dessous présente la succession des étapes réalisées lors de l'étude et de l'analyse d'une biomolécule. Chaque phase sera ensuite détaillée.



1 L'ÉCHANTILLON

TYPES D'ÉCHANTILLONS

On distingue deux types d'échantillons :
- **échantillon authentique** : la molécule à analyser est contenue dans la totalité du prélèvement. Par exemple : recherche bactérienne sur les urines de la journée (ECBU = examen cytobactériologique urinaire) ;
- **échantillon représentatif** : la molécule à analyser est contenue dans un mélange de plusieurs substances. Ce mélange doit être homogène. Quel que soit le lieu du prélèvement, il doit être représentatif du milieu. *Exemple* : biopsie hépatique.

PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON

Pour conserver intact l'échantillon, il peut subir un certain nombre de traitements, comme une **addition de substances**. Elles doivent être utilisées en petites quantités afin de ne pas modifier la structure des molécules à analyser.
Les substances additionnées sont :
- des antiglycolytiques ;
- des antiseptiques ;
- des anticoagulants ;
- des substances nutritives.

Différentes opérations sont parfois réalisées pour faciliter l'analyse de l'échantillon :
- **le broyage** : permet de réduire en fines particules un échantillon solide comme un tissu ou un prélèvement d'organe. Cette opération est pratiquée à une basse température (0-4 °C) dans un mortier ou dans un broyeur ;
- **l'homogénéisation** : transforme l'échantillon en une phase unique à partir de prélèvements possédant plusieurs phases comme les crachats, les prélèvements bronchiques, gastriques ou les selles ;
- **l'éclatement cellulaire** : se fait par congélation et décongélation successives ou par sonication en utilisant des ultrasons. Il permet la rupture de la membrane cellulaire et l'analyse du contenu de la cellule ;
- **la déshydratation** : élimine l'eau de l'échantillon afin de stopper les réactions d'hydrolyse susceptibles de modifier la nature des biomolécules ;

• **le traitement enzymatique** : consiste à traiter l'échantillon par des enzymes spécifiques afin d'isoler les biomolécules à analyser.

2 LES MÉTHODES D'EXTRACTION

DÉFINITION

L'extraction consiste à transférer l'échantillon du milieu initial vers un autre milieu. Il y sera analysé et dosé.
Si l'échantillon se trouve dans un milieu liquide (urines, liquide gastrique...) et doit être transféré dans un autre liquide, il s'agit d'une **extraction liquide–liquide**.
Si l'échantillon se trouvant dans un milieu liquide est transféré dans un milieu solide, il s'agit d'une **extraction liquide–solide**.
Le transfert de l'échantillon d'un milieu solide vers un autre milieu solide est une **extraction solide–solide**.

RAPPEL DE QUELQUES NOTIONS

La dissolution est une opération pharmaceutique qui consiste à diviser un corps solide, liquide ou gazeux dans un liquide ou un gaz. Ce dernier est nommé véhicule ou solvant. La substance à dissoudre est le soluté. Le résultat de cette opération est une solution.
Lorsque deux liquides sont en simple contact dans un tube à essai, on constate, après un certain temps, une migration des molécules d'un liquide vers l'autre liquide ; ceci est le phénomène de **diffusion**. En biochimie, la diffusion se fait le plus souvent à travers la membrane cellulaire. La diffusion est régie selon la loi de Fick.
Le **coefficient de partage** est le rapport entre la concentration du soluté dans la phase extractive et sa concentration dans le milieu initial. C'est une constante pour un soluté donné, pour un solvant donné, dans des conditions de température et de pression déterminées.

EXTRACTION LIQUIDE–LIQUIDE

Elle met en jeu deux liquides : d'une part le liquide dans lequel se trouve le soluté, d'autre part le liquide extractif non miscible au liquide initial.
On peut procéder à trois types d'extraction :
• **extraction par simple contact** : le liquide contenant le soluté et le liquide extractif sont mis en contact, puis agités pour faciliter le passage du soluté d'un milieu dans l'autre. Les deux phases sont ensuite séparées dans une ampoule à décanter. Le passage du soluté dans le liquide extractif se fait selon un coefficient de partage défini (exemple : extraction des lipides dans le benzène ou le chloroforme) ;
• **extraction par contacts multiples** : on répète la même opération plusieurs fois jusqu'à épuisement, afin d'augmenter la concentration du soluté dans le liquide extractif ;
• **extraction à contre-courant** : les deux liquides circulent en sens inverse ; le passage du soluté se fait à l'interface de ces deux liquides. Cette extraction est réalisée en milieu industriel.

EXTRACTION LIQUIDE–SOLIDE

Cette méthode, moins longue que la précédente, est de plus en plus utilisée, en particulier pour les hormones. Dans un premier temps, le liquide contenant le soluté passe sur un solide, comme la cellulose, les résines échangeuses d'ions, qui retiennent les particules. On fait ensuite passer sur ce solide un solvant approprié, dans lequel vont se dissoudre les molécules de soluté retenues : c'est l'**élution**.

EXTRACTION SOLIDE–SOLIDE

Cette technique est peu utilisée en pharmacie. Elle est rencontrée en parfumerie et dans l'industrie agroalimentaire. Par exemple, pour la fabrication de la confiture de rose, on dépose les pétales de rose sur une gélose qui s'en imprègne.



3 LES MÉTHODES DE SÉPARATION ET DE PURIFICATION

LA SÉPARATION PAR PRÉCIPITATION

Cette méthode concerne surtout les molécules hydrophiles. En modifiant la nature du solvant, le pH, ou par addition de sels, on rend les molécules de soluté insolubles. Elles précipitent et sont séparées par filtration (exemple : précipitation des lipides en présence de sels de plomb dans l'éther).
Autre exemple : lorsque la solution comporte un mélange de protéines, on peut les séparer individuellement. En ajoutant progressivement les sels, les protéines précipitent sélectivement selon leur solubilité dans le milieu. Cette méthode est nommée **précipitation fractionnée**.

LE RELARGAGE

Par cette technique, le soluté est obtenu en versant la solution dans une solution à forte concentration ionique (exemple : relargage des « savons » dans une solution saline). La séparation du précipité se fait par filtration, décantation, centrifugation, ultracentrifugation, par dialyse ou par diffusion à travers une membrane.

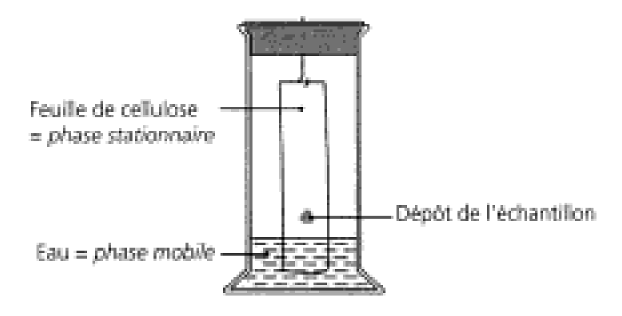
LA CHROMATOGRAPHIE

Le terme « chromatographie » signifie « écriture en couleurs ». Elle a été décrite pour la première fois par le botaniste Tswett, qui séparait des pigments végétaux sur une colonne d'alumine.

Définition et principe

Définition
La chromatographie est une méthode d'analyse qui permet de séparer les différents constituants d'un mélange par entraînement d'une phase mobile (liquide ou gaz) le long d'une phase stationnaire (solide ou liquide fixé).

EXEMPLE DE CHROMATOGRAPHIE SELON TSWETT



Principe
La chromatographie est basée sur la migration différentielle de molécules en fonction de leur taille, leur forme, leur masse, leur charge, leur solubilité ou leurs propriétés d'adsorption.



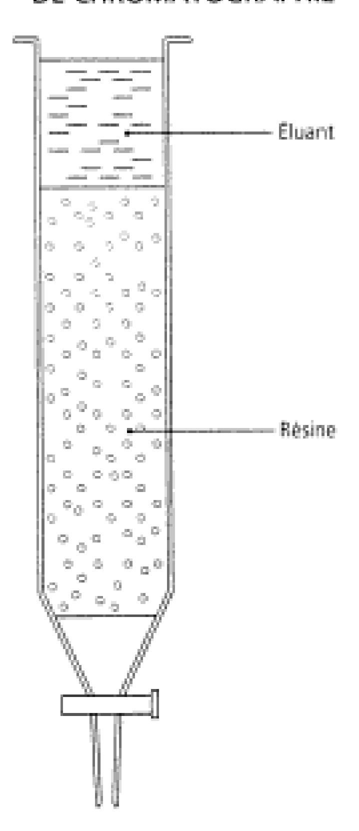
On peut facilement réaliser soi-même une chromatographie en déposant un peu d'encre noire sur un morceau de buvard, le morceau de buvard étant la phase stationnaire. L'ensemble est placé sur le bord d'un verre d'eau. L'eau, phase mobile, migre par capillarité le long du buvard. Après un certain temps, on voit apparaître sur le buvard différentes taches de tailles et de couleurs différentes. Celles-ci représentent les différents constituants de l'encre noire.

Classification

Il existe différentes applications de la chromatographie. Ces méthodes peuvent être classées de différentes façons.

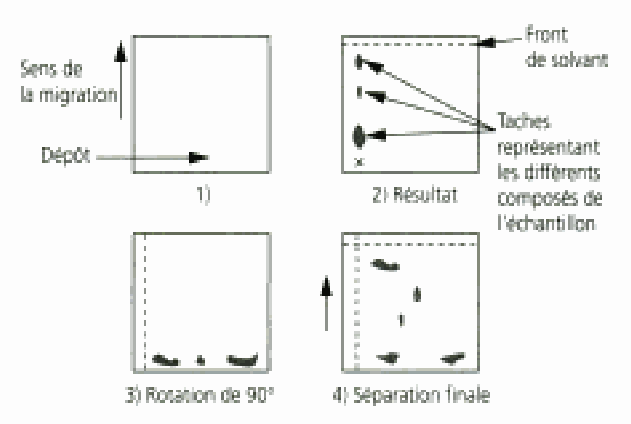
Selon la disposition de la phase stationnaire
Sur colonne : la **chromatographie sur colonne** est une technique très utilisée en biochimie. Les colonnes utilisées sont en verre, d'une longueur suffisante afin d'obtenir une bonne séparation des différents constituants de l'échantillon. Ces colonnes sont remplies d'un support solide constituant la phase stationnaire, qui peut être du sable, un gel (de silice ou d'alumine) ou une résine échangeuse d'ions. L'échantillon, déposé délicatement à la surface de la phase stationnaire, est entraîné par un solvant, ou phase liquide, dont le débit est maintenu constant durant toute la durée de l'opération. L'élution par un solvant adéquat de cette colonne permet de séparer les différentes molécules. Recueilli dans des tubes à essai, chaque composé est analysé.

EXEMPLE D'UNE COLONNE DE CHROMATOGRAPHIE



En couche mince sur un plan :
- **chromatographie sur papier** en une ou deux dimensions. Le papier utilisé est en général de la cellulose qui représente une phase stationnaire idéale. Une fois la migration terminée, un réactif spécifique des différentes molécules est vaporisé sur le papier. Ce réactif fixe les substances, qui seront ensuite révélées sous forme de taches par la lumière ultraviolette ou par fluorescence ;
- **chromatographie sur couche mince (CCM)** : on utilise le même principe que la chromatographie sur papier, seul le support est différent. La phase stationnaire est une plaque en verre, en métal ou en plastique recouverte d'un gel de silice, d'alumine ou de cellulose. Elles sont maintenant vendues tou-

CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER EN DEUX DIMENSIONS



tes prêtes dans le commerce. Cette méthode permet l'utilisation d'un plus grand nombre de solvants et les composés peuvent être révélés par des réactifs corrosifs à haute température, ce qui est impossible avec le papier. Cela explique sa plus fréquente utilisation en laboratoire.

Selon la technique utilisée

La chromatographie d'adsorption : la phase solide est un support de silice ou d'alumine sur laquelle vont s'adsorber, plus ou moins vite et plus ou moins fortement, les constituants à séparer. Le composé s'adsorbant le plus fortement reste en haut de la colonne. On procède ensuite à l'élution et au recueil des différentes fractions comme cela a été décrit précédemment. L'intensité de la fixation dépend des forces de Van der Waals, des liaisons hydrogènes, de la charge et de la structure de la molécule. Cette méthode peut être utilisée pour séparer des isomères. La chromatographie d'adsorption est réalisée sur colonne.

La chromatographie de partage : la phase solide est un support solide saturé d'eau, dans laquelle se trouve le mélange à séparer. On fait passer un solvant organique (mélange de chloroforme et de butanol, par exemple) qui représente la phase mobile. On utilise alors la différence de coefficient de partage des composés du mélange, le composé ayant le plus grand coefficient de partage en faveur du solvant organique sera élué le premier ; celui dont le coefficient de partage est plus en faveur de l'eau sera élué le dernier. Cette technique est utilisée pour des constituants qui sont à la fois solubles dans l'eau et dans les solvants organiques comme les oses. La chromatographie de partage peut être réalisée sur couche mince ou sur colonne.

La chromatographie d'échange d'ions : la phase solide est représentée par des macromolécules ou « résines » portant des groupements ionisables et capables d'échanger certains de leurs ions avec des ions contenus dans le solvant ou phase mobile. On distingue les résines cationiques ; elles échangent des cations en se comportant comme des acides. L'échange d'ions se fait selon l'équation suivante :

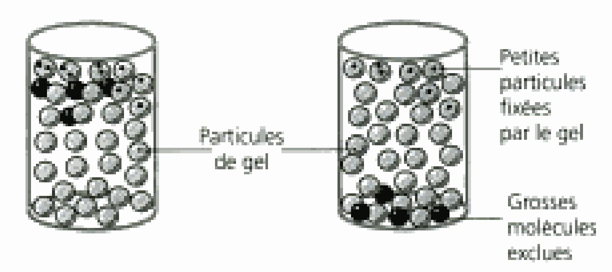
$$\underbrace{R^-}_{\text{résine}} + H^+ + \text{cation libre } (+) \longrightarrow \underbrace{R^- + \text{cation fixé}}_{\text{résine après échange d'ion}} + H^+ \text{ libre}$$

Les résines anioniques échangent de la même façon des anions en se comportant comme des bases ($R^+ OH^-$).

L'étape finale est l'élution : elle consiste à déplacer l'ion déjà fixé par un autre ion de charge, de densité et de concentration plus élevées. On peut aussi déplacer l'ion fixé par modification des conditions expérimentales tels le pH ou la force ionique. Dans une troisième étape, on régénère la résine afin de la rendre de nouveau utilisable, par exemple pour la séparation des acides aminés. On la retrouve aussi dans les adoucisseurs d'eau : les résines sont régénérées par du chlorure de sodium à forte concentration.

La chromatographie gel filtration ou chromatographie d'exclusion ou tamisage moléculaire : les molécules sont séparées en fonction de leur taille. On fait passer le mélange sur une colonne remplie de particules de gel, les petites molécules vont pénétrer dans le gel tandis que les grosses molécules seront exclues et éluées plus rapidement que les molécules de petite taille. Les gels utilisés sont des gels de dextranes, d'agarose, d'acrylamide ou de polystyrène.

PRINCIPE DE LA CHROMATOGRAPHIE GEL FILTRATION



Les protéines peuvent être séparées grâce à cette méthode, leur masse moléculaire peut être alors déterminée d'après leur volume d'élution ou le calibrage de la colonne.

La chromatographie d'affinité : la phase stationnaire est un solide inerte sur lequel est fixé un effecteur présentant une « bioaffinité » pour des molécules contenues dans la solution à analyser. Cette affinité est de type enzyme–substrat, antigène–anticorps... L'élution se fait ensuite en utilisant une molécule ayant une plus grande affinité pour la molécule déjà fixée ; il s'agit d'une élution par compétition. Ce type de chromatographie est utilisé pour isoler des enzymes ou des récepteurs et se fait sur colonne.

Selon la nature des phases en présence

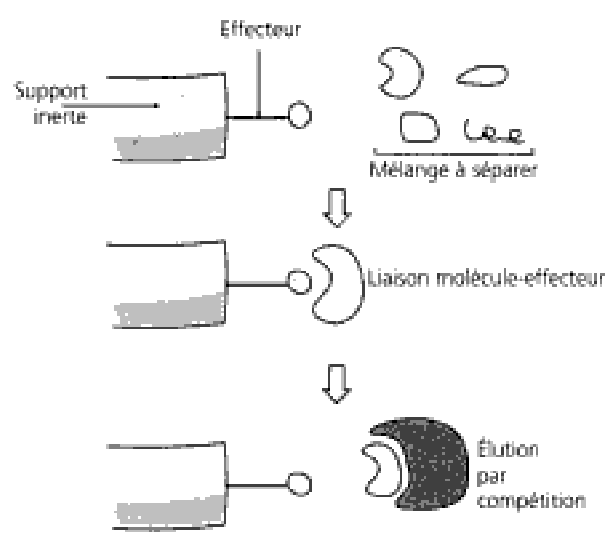
La chromatographie liquide–solide : la phase stationnaire est un solide et la phase mobile un liquide. C'est le cas de la chromatographie d'adsorption, de gel filtration, d'affinité.

La chromatographie liquide–liquide : les phases stationnaire et mobile sont des liquides ; cela concerne la chromatographie de partage.

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) : la phase mobile est un gaz.

Si la phase stationnaire est un liquide, il s'agit d'une chromatographie gaz–liquide, c'est une chromatographie de partage.

PRINCIPE DE LA CHROMATOGRAPHIE D'AFFINITÉ

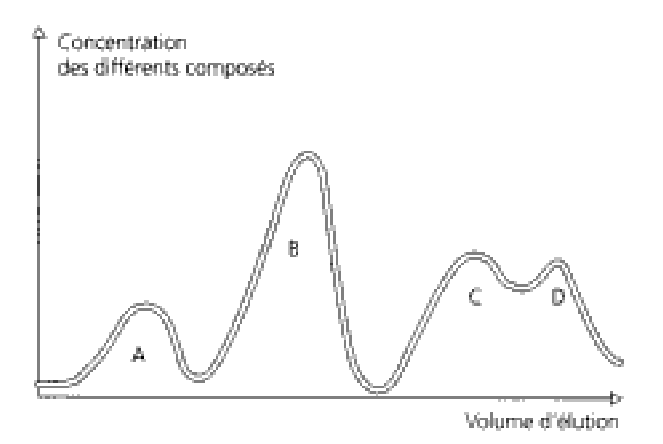


Si la phase stationnaire est un solide, il s'agit d'une chromatographie gaz–solide, c'est une chromatographie d'adsorption. Ce type de chromatographie concerne des molécules gazeuses ou volatiles ; elle est utilisée en biochimie pour la séparation et la purification des lipides, des oses, des stéroïdes.

La chromatographie liquide haute performance (CLHP, en anglais : *HPLC*) : c'est une chromatographie de partage dans laquelle la phase mobile liquide est sous haute pression (300 à 600 bars). Ce type de chromatographie nécessite un appareillage plus sophistiqué, ce qui explique son utilisation en milieu industriel pour la purification et le contrôle des matières premières et des produits finaux.

À la fin de la chromatographie proprement dite, on procède à l'évaluation de la concentration du soluté dans l'éluat, qui peut être transcrite sous forme d'un graphe appelé **chromatogramme**. Ce dernier permet en fait le dosage des composés.

CHROMATOGRAMME (LA SÉPARATION DES FRACTIONS C ET D EST INCOMPLÈTE)



L'ÉLECTROPHORÈSE

Définition et principe

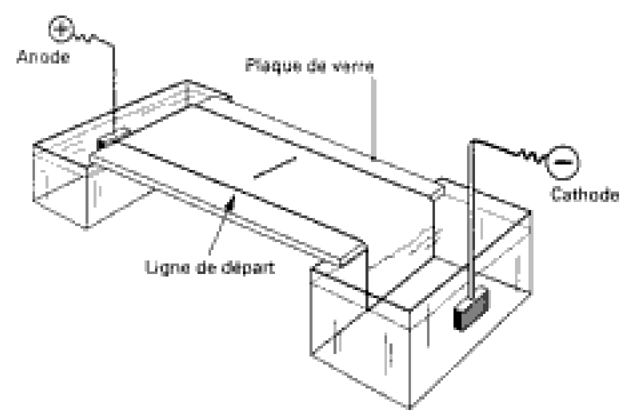
Définition

L'électrophorèse est une méthode d'analyse qui permet de séparer, sous l'influence d'un champ électrique, des composés ionisés. Ces composés peuvent être des ions minéraux ou organiques, des molécules polarisables comme les acides aminés, les protéines…

Principe

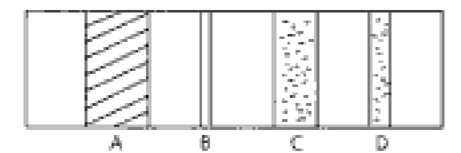
Le mélange à séparer est déposé sur un support solide d'acétate de cellulose, de gel d'agarose ou de gel de polyacrylamide, lui-même imbibé d'une solution facilitant le passage du courant. Les particules chargées négativement vont migrer vers l'anode, les particules chargées positivement vers la cathode, la migration des particules dépend aussi de la température, du pH du milieu et de l'intensité du champ électrique.

ÉLECTROPHORÈSE

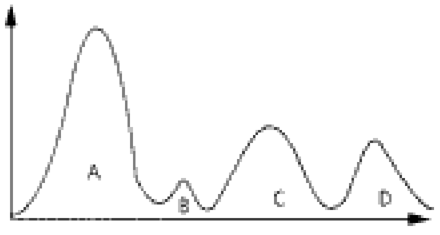


À la fin de l'opération, le support est séché et les différentes molécules révélées grâce à des colorants ou des révélateurs spécifiques. On peut faire une analyse qualitative et quantitative des fractions. Après passage de la bande à travers un

ANALYSE ÉLECTROPHORÉTIQUE



– Support d'électrophorèse après migration



– Courbe permettant le dosage des différentes fractions

Pour réaliser l'étude de l'absorption moléculaire, on utilise deux types d'appareils :
• les **photomètres** ou photocolorimètres munis d'un filtre afin de sélectionner une bande du spectre visible déterminée ;
• les **spectrophotomètres**. Un spectrophotomètre est un photomètre perfectionné. En effet, il est difficile de distinguer deux substances absorbant à des longueurs d'onde voisines ; grâce au spectrophotomètre, on peut disperser les différentes radiations selon leur longueur d'onde et mesurer ainsi leur intensité. L'ensemble des différentes radiations d'un flux lumineux est appelé **spectre**.

Cette méthode est très utilisée en biochimie pour l'identification et le dosage des protéines, des acides nucléiques.

La spectrophotométrie d'absorption atomique

Cette méthode suit aussi la loi de Beer-Lambert, elle permet d'identifier et de doser des éléments tels que le fer, le zinc, le cuivre, le plomb, le sélénium, etc. dans les tissus. L'appareil utilisé est une lampe à cathode creuse qui va émettre un rayonnement spécifique de l'élément recherché. L'échantillon à analyser est placé sur le trajet du faisceau lumineux. L'absorption de la lumière va signifier la présence de l'élément. L'intensité de l'absorption est proportionnelle au nombre de particules présentes.

La photométrie d'émission

Certains corps chauffés ou soumis à des décharges électriques ont la capacité d'émettre des rayonnements lumineux dans le visible, l'ultraviolet, l'infrarouge ou les rayons X.
Dans la photométrie d'émission, les substances à analyser sont sous forme atomique. La source d'excitation est la flamme. Le spectre d'émission obtenu est caractéristique de l'élément. L'intensité de la radiation est proportionnelle à la quantité du corps en présence. Par cette méthode, on dose le sodium (flamme jaune), le calcium, le potassium et le lithium.

La fluorimétrie

Les molécules, en absorbant de la lumière, passent à un niveau énergétique supérieur ; lorsqu'elles reviennent à leur niveau énergétique initial, elles émettent un rayonnement fluorescent. Ces molécules possèdent un noyau aromatique comme les vitamines, les catécholamines, les stéroïdes. L'appareillage utilisé est un fluorimètre.

La néphélémétrie

La néphélémétrie est la mesure de la lumière diffusée par des particules en suspension dans un liquide. La diffusion des particules dépend de leur taille : plus elles sont grosses, plus elles diffusent. Les protéines sériques après immunoprécipitation sont dosées de cette manière.

L'opacimétrie

Son principe découle de la néphélémétrie : on mesure l'intensité du rayon lumineux qui n'a pas diffusé. Elle est utilisée en bactériologie pour évaluer les concentrations de suspensions cellulaires.

Réfractométrie

Cette méthode détermine l'indice de réfraction, c'est-à-dire le changement de propagation d'une onde à la surface de séparation de deux milieux.

Polarimétrie

Les substances dites « optiquement actives », traversées par un faisceau de lumière polarisée, provoquent une rotation du plan de la lumière polarisée. On mesure l'angle de rotation de ce plan, qui est proportionnel à la concentration de la solution.

MÉTHODES ENZYMATIQUES

Les enzymes sont des catalyseurs biologiques qui sont spécifiques de leur substrat et de la réaction qu'ils catalysent. Pour être actifs, ils nécessitent souvent la présence de coenzymes (*cf.* le chapitre sur les enzymes).
Les méthodes de dosage enzymatiques font appel à différents principes :
• on peut mesurer la disparition du substrat par dosage ou par étude de la cinétique de la réaction ;
• on peut mesurer l'apparition du produit final par les mêmes procédés ;
• on utilise des propriétés particulières du coenzyme intervenant dans la réaction ; par exemple, dans le dosage de la glycémie au laboratoire ou dans les lecteurs de glycémie :

glucose → glucose-6-phosphate

Cette réaction se fait en présence d'une enzyme, l'hexokinase, et d'ATP.

glucose-6-phosphate → gluconate-6-phosphate

Cette réaction se fait en présence d'une enzyme, le glucose-6-phosphate déshydrogénase, et de NADP. Le NADP est alors transformé en NADPH. Au cours de la formation de NADPH, on constate un pic d'absorption du flux lumineux à une longueur d'onde de 340 nm.
Ces méthodes enzymatiques ont pu être automatisées et sont fréquemment utilisées en laboratoire pour les analyses biochimiques : glycémie, cholestérol, triglycérides, urée…

MÉTHODES IMMUNOCHIMIQUES

Les méthodes immunochimiques utilisent la très grande spécificité antigène–anticorps.
Pour doser une molécule particulière contenue dans un liquide biologique, on utilise des anticorps spécifiques de cette molécule. Il y a formation d'un complexe antigène–anticorps. C'est ce complexe qui est dosé par :
• le poids de l'immun complexe ;
• la précipitation sur gel ;
• l'immunoélectrophorèse ;
• l'utilisation d'antigène ou d'anticorps marqués (test ELISA) ;
• la néphélémétrie…

Cette méthode est fiable, limite les « faux positifs » et les « faux négatifs » par la spécificité des anticorps (Ac). Pour une

plus grande sécurité, on utilise des Ac monoclonaux. Ces méthodes sont courantes au laboratoire, elles permettent le dosage de molécules présentes en faibles quantités dans l'organisme comme les hormones, l'insuline…
On peut établir aussi le diagnostic de la rubéole, de la toxoplasmose, des hépatites, etc. et réaliser des tests de grossesse, tests VIH (test ELISA)…

Exemple du test de grossesse : quand une femme est enceinte, elle fabrique une hormone spécifique HCG (hormone chorionique de grossesse). Cette protéine est recherchée lors du test de grossesse.

L'HCG de femme est injectée à un animal. Ce dernier la considère comme un antigène (Ag) et fabrique un Ac anti-HCG (Ac_{HCG}). Cet Ac est ensuite isolé. On y fixe une substance fluorescente.
Au laboratoire, un échantillon de l'urine de la femme ou de son sang est mis en contact avec cet Ac_{HCG}.
Si la femme est enceinte, le complexe Ac-Ag se forme, le milieu réactionnel devient fluorescent. La mesure de cette fluorescence est proportionnelle à la concentration en HCG chez la femme.
Si la femme n'est pas enceinte, aucune fluorescence ne sera détectée.

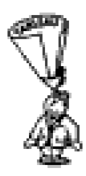


TABLEAU RÉUNISSANT LES DIFFÉRENTES TECHNIQUES UTILISÉES POUR LES LIPIDES, LES GLUCIDES ET LES PROTIDES

Méthode d'identification et de dosage	Glucides	Lipides	Protides
Précipitation		Différence de solubilité des sels de Pb dans l'éther : insolubilité des sels d'acides saturés ou insaturés à haut PM	• Addition de sels neutres • Modification de pH de la solution dans laquelle les protéines sont dissoutes • Addition d'un solvant organique miscible à l'eau et à basse température
Chromatographie	• De partage sur papier ou de colonne : permet de séparer les oses • D'adsorption pour les dérivés méthylés ou acétylés • En phase gazeuse	• CPG et/ou spectrométrie de masse • Sur papier en phase inverse • D'adsorption sur colonne de charbon, d'alumine ou de silice : permet la séparation des acides gras	• Par échange d'ions (pHi) • Par filtration
Électrophorèse			Électrophorégramme : c'est le caractère amphotère des protéines qui est utilisé (pHi)
Méthodes enzymatiques	• Fermentation • Dosage enzymatique des milieux biologiques (glycémie…)		Séquençage des acides aminés par des enzymes spécifiques type trypsine, pepsine
Colorimétrie	Liqueur de Fehling (réductimétrie)		• Réaction à la ninhydrine • Réaction du biuret
Distillation		Distillation fractionnée des esters méthyliques des acides gras	
Ultracentrifugation			Sédimentation d'autant plus facile que la masse molaire est plus élevée
Propriété immunogène			Pouvoir antigénique des protéines
Extraction à contre-courant		Séparation des acides gras	
Polarimétrie	Pouvoir rotatoire		Pouvoir rotatoire

Test de connaissances

Pour répondre à ce questionnaire, les apprenants se référeront au cours.

1. Donner la définition d'un échantillon représentatif.

2. Citer trois opérations faites sur échantillon avant son analyse. Pour chacune d'elles, indiquer son intérêt.

3. Citer les différentes méthodes d'extraction liquide–liquide.

4. Définir et décrire le relargage, indiquer son utilisation en biochimie.

5. À l'aide d'un exemple, donner la définition de la phase stationnaire et de la phase mobile en chromatographie.

6. Expliquer le principe et donner l'application de la chromatographie d'échange d'ions.

7. Citer une application de la chromatographie en phase gazeuse.

8. Faire un schéma simplifié de l'électrophorèse, donner une application en biochimie de cette technique.

9. En quoi la loi de Beer-Lambert permet-elle une analyse quantitative ?

10. Expliquer le principe de la fluorimétrie. Citer deux catégories de substances dosées par cette méthode.

11. Expliquer brièvement le principe de dosage d'un test de grossesse.

12. Sur quelle propriété reposent les méthodes de dosage enzymatiques ?

Exercices

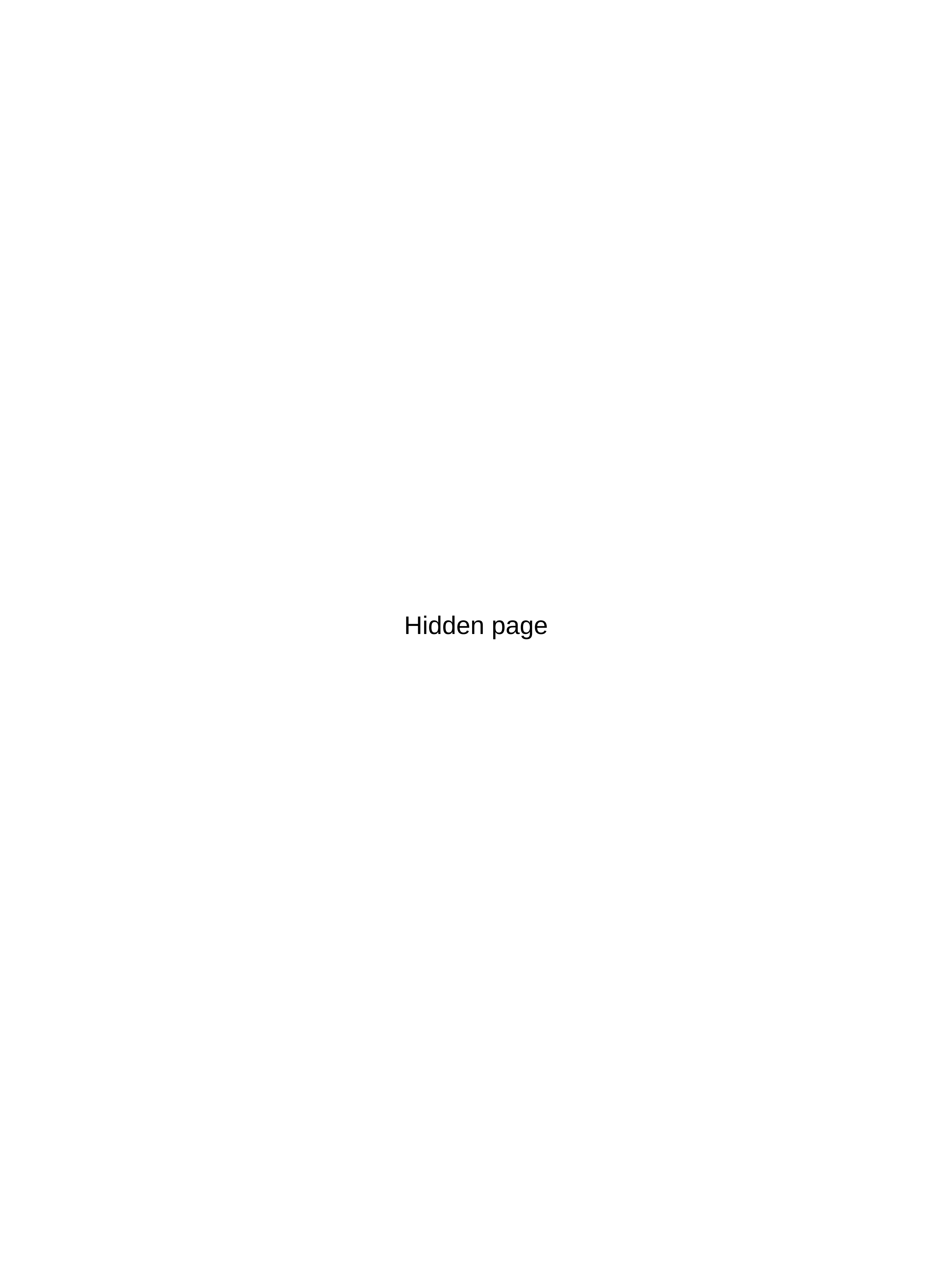
1. Parmi les différentes méthodes d'identification suivantes, lesquelles sont utilisables pour les glucides ?
   - a. Chromatographie.
   - b. Électrophorèse.
   - c. Colorimétrie.
   - d. Distillation.
   - e. Immunochimique.

2. Parmi les différentes méthodes d'identification suivantes, lesquelles sont utilisables pour les lipides ?
   - a. Chromatographie.
   - b. Électrophorèse.
   - c. Colorimétrie.
   - d. Distillation.
   - e. Immunochimique.

3. Parmi les différentes méthodes d'identification et de dosage suivantes, lesquelles sont utilisables pour identifier les protéines ?
   - a. Chromatographie.
   - b. Électrophorèse.
   - c. Distillation.
   - d. Extraction à contre-courant.
   - e. Volumétrie.

4. Quelle affirmation est exacte ? L'électrophorèse :
   - a. permet de séparer des composés neutres en fonction de leur charge ;
   - b. permet de séparer des composés neutres sous l'influence d'un champ électrique ;
   - c. permet de séparer des composés ionisés sous l'influence d'un champ électrique ;
   - d. est une technique de séparation des glucides ;
   - e. est une technique de mesure de la glycémie ;

5. Quelle affirmation est exacte ? La technique de précipitation :
   - a. est une méthode d'extraction ;
   - b. correspond à la chromatographie ;
   - c. est une méthode de séparation et de purification ;
   - d. est mise à profit dans la technique d'électrophorèse ;
   - e. est inutilisée aujourd'hui.


Hidden page

AVANT-PROPOS

1.

CH_3-[CO]$-C(CH_3)_2-CH_2-CH_3$ — Cétone

$C_2H_5-CH(CH_3)-$[CHO] — Aldéhyde

$CH_3-C(CH_3)_2-CH_2-$(COOH) ← Acide carboxylique

$CH_3-C(C_3H_7)(CH_2-CH_3)-$[CO−NH₂] ← Amide

2. 2-méthylbutanal : $CH_3-CH_2-CH(CH_3)-$(CHO) ← fonction aldéhyde

méthylpropylamine : CH_3, C_3H_7 >(NH) ← fonction amine II aire

propan2-ol : CH_3-(CHOH)$-CH_3$

↑ fonction alcool II aire

acide 2,3-diméthyl-5-éthylhéxanoïque : $CH_3-CH(C_2H_5)-CH_2-CH(CH_3)-CH(CH_3)-$(COOH) ← fonction acide carboxylique

3. A) Cycle benzénique portant (COOH) ← fonction acide et CH_2-(NH_2) ← fonction amine primaire

Formule brute : $C_8H_9NO_2$
Masse molaire moléculaire : $(12 \times 8) + (1 \times 9) + (16 \times 2) + (14 \times 1)$
= <u>151 g/mol</u>

B) Cycle benzénique portant (CHO) ← fonction aldéhyde et (CO−NH_2) ← fonction amide

Formule brute : $C_8H_7NO_2$
Masse molaire moléculaire : $(12 \times 8) + (1 \times 7) + (16 \times 2) + (14 \times 1)$
= <u>149 g/mol</u>

C)

CH3

OH ← fonction alcool secondaire

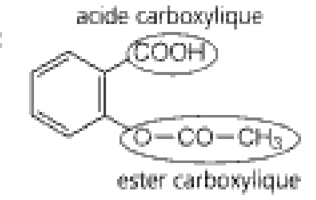
HO

β-estradiol

fonction phénol

Formule brute : $C_{18}H_{24}O_2$
Masse molaire moléculaire : (12 × 18) + (1 × 24) + (16 × 2)
= <u>272 g/mol</u>

D :



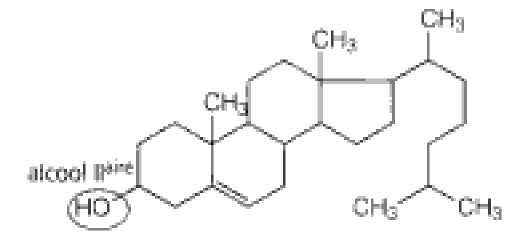
Aspirine
FB : $C_9H_8O_4$
M : 180 g/mol

E :

phénol
HO
éther oxyde
O
CH3
N
amine III
HO
alcool IIaire

Morphine
FB : $C_{17}H_{19}NO_3$
M = 285 g/mol

F :



Cholestérol
FB : $C_{27}H_{46}O$
M = 386 g/mol

G :



Acide arachidonique
FB : $C_{20}H_{32}O_2$
M = 304 g/mol

Chapitre : CONSTITUTION DE LA MATIÈRE VIVANTE

1. Une déshydratation est une perte d'eau de plus de 5 % du poids du corps.
Chez les nourrissons, dont la teneur en eau est importante et l'anabolisme très important, toute variation peut modifier le métabolisme.
Chez les personnes âgées, ce risque est accentué par le fait que la sensation de soif s'amenuise avec l'âge. Le risque encouru par les personnes âgées est cardiaque : une perte en eau s'accompagne d'un déséquilibre électrique (teneur en sodium et en potassium) pouvant mener à des troubles cardiaques.

2. Parce qu'il y a une compétition entre les ions lithium et sodium lors de leur réabsorption au niveau du tubule proximal.

3. **c.** Est responsable avec le potassium de la polarisation des membranes.

4. **b.** Son élimination urinaire est régulée par l'aldostérone.

5. **d.** Sa concentration dans le plasma s'appelle kaliémie.

Chapitre : LES LIPIDES

1. C'est l'acide palmitoléique qui a le point de fusion le plus bas.
Le point de fusion augmente avec la longueur de la chaîne et diminue avec le nombre de doubles liaisons. Dans le cas présent, les deux acides ont une longueur de chaîne identique : ils possèdent tous les deux 16 carbones. L'acide palmitoléique possède une double liaison, il est mono-insaturé : son point de fusion est de l'ordre de 1 °C. L'acide palmitique ne possède pas de double liaison, il est saturé : son point de fusion est de 62-64 °C.

2.

	Formule brute	Formule semi-développée	Masse molaire
Acide gras saturé	$C_xH_{2x}O_2$	$CH_3—(CH_2)_y—COOH$	
Acide laurique	$C_{12}H_{24}O_2$	$CH_3—CH_2)_{10}—COOH$	(12 × 12) + (1 × 24) + (16 ×2) = 200 g/mol
Acide stéarique	$C_{18}H_{36}O_2$	$CH_3—(CH_2)_{16}—COOH$	(12 × 18) + (1 × 36) + (16 × 2) = 284 g/mol
Acide gras mono-insaturé	$C_xH_{2x-2}O_2$	$CH_3—(CH_2)_y—CH{=}CH—(CH_2)_z—COOH$	
Acide oléique	$C_{18}H_{34}O_2$	$CH_3—(CH_2)_7—CH{=}CH—(CH_2)_7—COOH$	(12 × 18) + (1 × 34) + (16 × 2) = 282 g/mol

3. Cette réaction est une réaction d'addition d'H_2, une hydrogénation.
$CH_3—(CH_2)_4—CH{=}CH—CH_2—CH{=}CH—(CH_2)_7—COOH + 2H_2 \longrightarrow CH_3—(CH_2)_{16}—COOH$
L'acide gras obtenu est un acide gras saturé.
Son point de fusion sera plus élevé car il ne comporte plus de double liaison.

4. L'acide arachidique est un acide gras saturé, les deux autres acides gras sont insaturés. On notera que la longueur de chaîne de ces trois acides gras est identique.
Différences physico-chimiques : *cf.* le *tableau* les présentant dans le cours.
Formule semi-développée : $CH_3—(CH_2)_4—CH{=}CH—CH_2—CH{=}CH—CH_2—CH{=}CH—CH_2—CH{=}CH—(CH_2)_3—COOH$
Formule brute : $C_{20}H_{32}O_2$
Masse molaire : 304 g/mol.

5. L'acide linolénique C18 : 3 possède trois doubles liaisons. On fixe une molécule d'iode I_2 sur chaque double liaison ; soit ici $3 \times I_2$. L'équation de la réaction s'écrit :

$$C_{18}H_{30}O_2 + 3\,I_2 \longrightarrow C_{18}H_{30}O_2I_6$$

278 — 762
100 — ?

L'indice d'iode I est donc : (100 × 762) ÷ 278 = 274.

L'indice d'iode permet de connaître le degré d'insaturation d'un corps gras ; plus l'indice est élevé, plus il est insaturé. Par comparaison avec l'indice d'iode de la pharmacopée, on détermine le degré de pureté d'un corps gras.

6. L'indice d'iode de l'huile reçue à la pharmacie est inférieur à l'indice donné par la pharmacopée, cela signifie donc que le produit reçu est impur.

7.
$$CH_2OH{-}CHOH{-}CH_2OH + 3\,C_{17}H_{35}COOH \longrightarrow \begin{array}{l} CH_2OCOC_{17}H_{35} + 3\,H_2O \\ | \\ CHOCOC_{17}H_{35} \\ | \\ CH_2OCOC_{17}H_{35} \end{array}$$

M glycérol : (12 × 3) + (1 × 8) + (16 × 3) = 92 g/mol.
M tristéarine : (12 × 57) + (1 × 110) + (16 × 6) = 890 g/mol.
Nombre de moles de glycérol dans 1 kg : 1 000 ÷ 92 = 10,86 moles.
1 mole de glycérol produit 1 mole de tristéarine.
10,86 moles de glycérol produiront 10,86 moles de tristéarine, soit une masse de :

10,86 × 890 = 9 665,4 g ou 9,665 kg

8. Le 1-stéaryl-2-palmityl-3-oléylglycérol est un ester de formule :

$$\begin{array}{l} CH_2OCOC_{17}H_{35} \\ | \\ CHOCOC_{15}H_{31} \\ | \\ CH_2OCOC_{17}H_{33} \end{array}$$

La réaction avec l'eau est appelée : **hydrolyse**. L'hydrolyse d'un ester est une réaction réversible et lente. À l'équilibre, elle donne un mélange de quatre produits : acide, alcool, ester et eau.
La réaction avec l'hydroxyde de sodium est appelée : **saponification**. La saponification est une réaction non réversible, elle produit un sel d'acide sous forme ionique appelé « savon ».

Équation de la réaction d'hydrolyse :

$$\begin{array}{l} CH_2OCOC_{17}H_{35} \\ | \\ CHOCOC_{15}H_{31} + 3\,H_2O \\ | \\ CH_2OCOC_{17}H_{33} \end{array} \rightleftharpoons CH_2OH{-}CHOH{-}CH_2OH + C_{17}H_{35}COOH + C_{15}H_{31}COOH + C_{17}H_{33}COOH$$

glycérol + acide stéarique + acide palmitique + acide oléique

Équation de la réaction de saponification :

$$\begin{array}{l} CH_2OCOC_{17}H_{35} \\ | \\ CHOCOC_{15}H_{31} + 3\,Na^+OH^- \\ | \\ CH_2OCOC_{17}H_{33} \end{array} \longrightarrow CH_2OH{-}CHOH{-}CH_2OH + C_{17}H_{35}COO^-Na^+ + C_{15}H_{31}COO^-Na^+ + C_{17}H_{33}COO^-Na^+$$

glycérol + stéarate de sodium + palmitate de sodium + oléate de sodium

9. La saponification est l'action d'une base forte sur un ester.
Cette base peut être l'hydroxyde de sodium Na^+OH^-, le sel obtenu est alors un sel de sodium.
Cette base peut être l'hydroxyde de potassium K^+OH^-, le sel est un sel de potassium.
On utilisera ici l'hydroxyde de sodium.

$$\begin{array}{l} CH_2OCOC_{15}H_{31} \\ | \\ CHOCOC_{15}H_{31} + 3\,Na^+OH^- \\ | \\ CH_2OCOC_{15}H_{31} \end{array} \longrightarrow CH_2OH{-}CHOH{-}CH_2OH + 3\,C_{15}H_{31}COO^-Na^+$$

10. Voir exercice précédent pour explications.

$$\begin{array}{l} CH_2OCOC_{17}H_{33} \\ | \\ CHOCOC_{17}H_{33} + 3\,Na^+OH^- \\ | \\ CH_2OCOC_{17}H_{33} \end{array} \longrightarrow CH_2OH{-}CHOH{-}CH_2OH + 3\,C_{17}H_{33}COO^-Na^+$$

11. Le premier composant est la sphingosine : alcool aminé entrant dans la composition des lipides.
Le deuxième composant est un acide gras ayant subi une saponification.
Le troisième composant est un sucre réducteur.
Le lipide envisagé appartient à la famille des sphingolipides ou lipides azotés. Cet hétérolipide est très abondant dans le tissu nerveux.

12.
$$\begin{array}{l} CH_2OCOC_nH_{2n+1} \\ | \\ CHOCOC_nH_{2n+1} + 3\,Na^+OH^- \longrightarrow \quad C_3H_8O_3 + 3\,C_nH_{2n+1}COO^-Na^+ \\ | \\ CH_2OCOC_nH_{2n+1} \end{array}$$

Le triglycéride peut s'écrire : $C_3H_5\ (OCOC_nH_{2n+1})_3$
Sa masse molaire $M = (12 \times 3) + (1 \times 5) + [(32 + 12 + 12n + 2n + 1)] \times 3$
$M = 176 + 42n = 891$
$42n = 891 - 176$
$n = 17$

La formule semi-développée du triglycéride est :

$$\begin{array}{l} CH_2OCOC_{17}H_{35} \\ | \\ CHOCOC_{17}H_{35} \\ | \\ CH_2OCOC_{17}H_{35} \end{array}$$

D'après l'équation de la réaction, 1 mole de corps gras produit 3 moles de savon.

Soit x, le nombre de moles de corps gras dans 28,5 g.
$x = m \div M$
$x = 28{,}5 \div 891 = 3{,}2.10^{-2}$ moles

Soit y le nombre de moles de savon obtenues :
$y = 3 \times 3{,}2 \times 10^{-2} = 9{,}6 \times 10^{-2}$ moles
Le savon de formule $C_{17}H_{35}COONa$ a pour masse molaire M'.
$M' = (12 \times 18) + (1 \times 35) + (16 \times 2) + 23 = 306$ g/mol
M' masse de savon obtenue : $y \times M' = (9{,}6 \times 10^{-2}) \times 306 = 29{,}3$ g

13.
$$\begin{array}{l} CH_2OCOC_{17}H_{29} \\ | \\ CHOCOC_{17}H_{29} \\ | \\ CH_2OCOC_{17}H_{29} \end{array}$$

$M = 57 \times 12 + 6 \times 16 + 1 \times 92 = 872$ g/mol.
Une mole de trilinolénate de glycéryle peut fixer 9 moles d'iode I_2.
Indice d'iode : 872 ⟶ $9 \times 254 = 2\,286$
100 ⟶ I
$I = 2\,286 \times 100/872 = 262{,}15$.

14. **d.** Ont une température de fusion qui augmente avec la longueur de la chaîne carbonée.

15. **d.** Fournissent par saponification des sels alcalins d'acides gras ou savons.

16. **e.** Du cholestérol.

Chapitre : LES GLUCIDES

1. $CH_2OH—CO—(CHOH)_3—CH_2OH$
Cette réaction est une réduction, une hydrogénation.
$CH_2OH—(CHOH)_4—CH_2OH$
Le corps obtenu est un polyol.

2.

	CHO HO—C*—H HO—C*—H H—C*—OH CH_2OH	CH_2OH C=O HO—C*—H CH_2OH	CHO H—C*—OH H—C*—OH HO—C*—H CH_2OH	CH_2OH C=O H—C*—OH H—C*—OH H—C*—OH CH_2OH
Série D ou L	D	L	L	D
Aldose	X		X	
Cétose		X		X
Tétrose		X		
Pentose	X		X	
Hexose				X
Nombre de C asymétriques	3	1	3	3

3. Le galactose est un aldohexose. C'est un hexose car il possède six carbones. C'est un aldose car il possède en C1 une fonction aldéhyde.
La forme cyclique du galactose est une forme pyranose grâce à un pont C1/C5.
C'est une liaison osidique qui relie le galactose et le glucose. Le composé obtenu est le lactose. Le lactose appartient à la famille des diholosides, il est formé de deux oses.

4. D : le groupement hydroxyle OH sur le C* en 5 est placé à droite.
β : l'hydroxyle du carbone anomère est placé au-dessus du plan.
Pyranose : la forme cyclique est un hexagone, grâce à un pont osidique C1/C5.
Après hydrolyse du lactose, on obtient deux oses : le galactopyranose et le glucopyranose.
Le lactose est un sucre réducteur, la fonction réductrice du glucose en C1 est libre.

5. $CHO—(CHOH)_4—COOH$
L'acide glucuronique sous forme cyclique est responsable de la glucuroconjugaison. Par sa fonction acide, il peut créer avec un alcool une fonction ester. Le composé obtenu est alors soluble dans l'eau, donc facile à éliminer par les urines. Cette glucuroconjugaison a lieu dans le foie.

6. α-D-galactopyranosyl (1-1)α-D-galactopyranoside.
Ce diholoside n'est pas réducteur, la fonction réductrice des deux oses est engagée dans la liaison osidique.

7. Nomenclature du diholoside : α-D-glucopyranosyl (1-1)α-D-glucopyranoside.
La β-glucosidase ne peut pas catalyser l'hydrolyse de ce diholoside, les carbones anomères des deux oses sont α.

8. Le composé C est un diholoside : il est formé de deux oses.
La liaison osidique se trouve entre le carbone C1 du glucose et le carbone C4 du fructose.
Après hydrolyse, on obtient un α-D-glucopyranose et un β-D-fructofuranose.
Sur l'α-D-glucopyranose, le pont osidique se trouve en C1-C5. Sur le β-D-fructofuranose, le pont osidique se trouve en C2-C5.

9. Un hétéroside est une molécule complexe, formée d'une partie glucidique et d'une génine de nature non glucidique et responsable des propriétés physiologiques de la molécule.
Son hydrolyse fournit un β-D-glucopyranose et un alcool : l'alcool coniférylique.

10. **b.** Fructose.

11. Répondre par vrai ou faux :
a. le saccharose est réducteur **F** ;
b. le saccharose est un polyholoside **F** ;
c. le saccharose est constitué de glucose et de fructose **V** ;
d. le mannose est un diholoside **F** ;
e. le maltose est un produit intermédiaire de la dégradation de l'amidon **V**.

12. **c.** Maltose.

13. **b.** Comporte une partie non glucidique.

Chapitre : LES PROTÉINES

1. Alanine = $CH_3-CH(NH_2)-COOH$

Leucine = $CH_3-CH(CH_3)-CH_2-CH(NH_2)-COOH$

Sérine = $HO-CH_2-CH(NH_2)-COOH$

2. À pH = 3, la sérine devient un cation de formule $NH_3^+-CH_2-COOH$.
À pH = 6, la sérine est un zwitterion de formule $NH_3^+-CH_2-COO^-$.
À pH = 12, la sérine est un anion de formule $NH_3-CH_2-COO^-$.

3. La thréonine a pour formule $CH_3-CHOH-CH(NH_2)-COOH$

$$CH_3-CHOH-CH(NH_2)-COOH + Na^+OH^- \longrightarrow CH_3-CHOH-CH(NH_2)-COO^-Na^+ + H_2O$$

$$CH_3-CHOH-CH(NH_2)-COOH + H^+Cl^- \longrightarrow CH_3-CHOH-CH(NH_3^+Cl^-)-COOH$$

4.

$$(HO)_2C_6H_3-CH_2-CH(NH_2)-COOH \longrightarrow CO_2 + (HO)_2C_6H_3-CH_2-CH_2(NH_2)$$

5. Val = $CH_3-CH(CH_3)-CH(NH_2)-COOH$

Ser = $CH_2OH-CH(NH_2)-COOH$

Équation de formation du dipeptide « Ser–Val » :

$$NH_2-\underset{\underset{CH_2OH}{|}}{CH}-COOH + NH_2-\underset{\underset{\underset{CH_3\quad CH_3}{CH}}{|}}{CH}-COOH \longrightarrow NH_2-\underset{\underset{CH_2OH}{|}}{CH}-CO-NH-\underset{\underset{\underset{CH_3\quad CH_3}{CH}}{|}}{CH}-COOH + H_2O$$

6. Les dipeptides pouvant être formés à partir de la glycine et de l'alanine sont :
- « Gly-Gly » ;
- « Ala-Ala » ;
- « Gly-Ala » ;
- « Ala-Gly ».

« Gly-Gly » :

$$NH_2-CH_2-COOH + NH_2-CH_2-COOH \longrightarrow NH_2-CH_2-CO-NH-CH_2-COOH + H_2O$$

« Ala-Ala » :

$$NH_2-\underset{\underset{CH_3}{|}}{CH}-COOH + NH_2-\underset{\underset{CH_3}{|}}{CH}-COOH \longrightarrow NH_2-\underset{\underset{CH_3}{|}}{CH}-CO-NH-\underset{\underset{CH_3}{|}}{CH}-COOH + H_2O$$

« Gly-Ala » :

$$NH_2-CH_2-COOH + NH_2-\underset{\underset{CH_3}{|}}{CH}-COOH \longrightarrow NH_2-CH_2-CO-NH-\underset{\underset{CH_3}{|}}{CH}-COOH + H_2O$$

« Ala-Gly » :

$$NH_2-\underset{\underset{CH_3}{|}}{CH}-COOH + NH_2-CH_2-COOH \longrightarrow NH_2-\underset{\underset{CH_3}{|}}{CH}-CO-NH-CH_2-COOH + H_2O$$

7. liaison peptidique

$$NH_2-\underset{\underset{\underset{\underset{COOH}{|}}{CH_2}}{|}}{CH}-\boxed{CO-NH}-\underset{\underset{\underset{\underset{C_6H_5}{|}}{CH_2}}{|}}{CH}-COOCH_3$$

$$NH_2-\underset{\underset{\underset{\underset{COOH}{|}}{CH_2}}{|}}{CH}-CO-NH-\underset{\underset{\underset{\underset{C_6H_5}{|}}{CH_2}}{|}}{CH}-COOCH_3 + 2\ H_2O \rightleftharpoons NH_2-\underset{\underset{\underset{\underset{COOH}{|}}{CH_2}}{|}}{CH}-COOH + NH_2-\underset{\underset{\underset{\underset{C_6H_5}{|}}{CH_2}}{|}}{CH}-COOH + CH_3OH$$

Formule brute de l'aspartame : $C_{14}H_{18}N_2O_5$

Masse molaire de l'aspartame : $M = (12 \times 14) + (1 \times 18) + (16 \times 5) + (14 \times 2) = 294$ g/mole.

Nombre de millimoles contenues dans un comprimé de 20 mg : n.

$n = 20 \times 10^{-3} \div 294 = 6{,}8 \times 10^{-5}$ moles = **$6{,}8 \times 10^{-2}$ millimoles**.

8. $NH_2-\underset{\underset{}{COOH}}{CH}-CH_2-CH_2-CO-NH-\underset{\underset{SH}{CH_2}}{CH}-CO-NH-CH_2-COOH + 2\,H_2O \rightleftharpoons$

$NH_2-\underset{COOH}{CH}-CH_2-CH_2-COOH + NH_2-\underset{\underset{SH}{CH_2}}{CH}-COOH + NH_2-CH_2-COOH$

Les liaisons peptidiques peuvent être mises en évidence par la réaction du biuret.
Le glutathion présente un intérêt biologique important. En effet, il participe aux réactions d'oxydoréduction de notre organisme. Deux molécules de glutathion peuvent se condenser par oxydation et donner des ponts disulfures —S—S— ; par réduction, ce pont peut être rompu et donner de nouveau deux molécules de glutathion avec deux fonctions —S—H. Ce mécanisme se produit de façon permanente dans notre organisme.

9. Le pH permettant de séparer ces deux protéines est pH = 6.
À pH = 6, la protéine X sera sous la forme X^- et migre vers l'anode, la protéine Y sous la forme Y^+ et migre vers la cathode.
À pH = 3, les protéines X et Y seront sous la forme X^+ et Y^+ et migrent vers l'anode.
À pH = 9 et pH = 12, elles sont sous la forme X^- et Y^- et migrent vers la cathode.

10. La chromatographie d'exclusion moléculaire retient de préférence les plus petites protéines : l'ordre d'élution sera A, puis B et enfin C.

11. **1)** Dipeptide His-Leu :

CO—NH—CH—COOH ; N ; NH ; NH_2 ; CH_2-CH ; CH_3 ; CH_3

2) Dipeptide Phe-His et son hydrolyse :

CO—NH—CH—COOH ; NH_2 ; CH_2 ; N ; NH ; $+ H_2O \longrightarrow$ COOH ; NH_2 ; + ; N ; NH ; COOH ; NH_2

Phe **His**

12. Vrai ou faux ?
a. le collagène est une protéine globulaire **F** ;
b. la dénaturation d'une protéine lui fait perdre sa structure primaire **F** ;
c. au point isoélectrique, Phi, la solubilité d'un acide aminé est minimale **V** ;
d. l'urée est un agent dénaturant des protéines **V** ;
e. la partie non protéique d'une hétéroprotéine est aussi appelée « aglycone » **F** ;
f. les lipoprotéines sont des holoprotéines **F** ;
g. la liaison peptidique est une fonction amide **V**.

13. **a.** La liaison qui unit deux acides aminés est une liaison peptidique.

14. **c.** Un acide aminé peut être mis en évidence par un test à la ninhydrine.

15. **a.** Sont appelées « caséines » ;
c. Sont des phosphoprotéines.

16. **b.** L'actine est impliquée dans la contraction musculaire.

9. **a.** La transcription a lieu dans le noyau des procaryotes.

10. **c.** La totalité du gène est transcrite.

11. **a.** Un anticodon est une séquence de nucléotides de l'ARNt.

12. **c.** Un codon correspond un seul anticodon.

13. **d.** Les ribosomes jouent un rôle fondamental dans la traduction.

14. **d.** Les bases sont à l'extérieur de l'hélice.

15. **b.** Une base + ribose.

16. **d.** Dénaturation ; phénomène hyperchrome.

Chapitre : ENZYMOLOGIE

1. **a.** Un catalyseur n'est pas consommé au cours de la réaction.
   c. Il agit sans rapport stoechiométrique avec les réactifs.

2. **b.** Union a un site de la molécule enzymatique distinct du site catalytique.

3. **c.** Diminution de l'énergie d'activation.

4. **b.** L'inhibiteur s'unit au site de fixation du substrat.

Chapitre : MÉTABOLISME

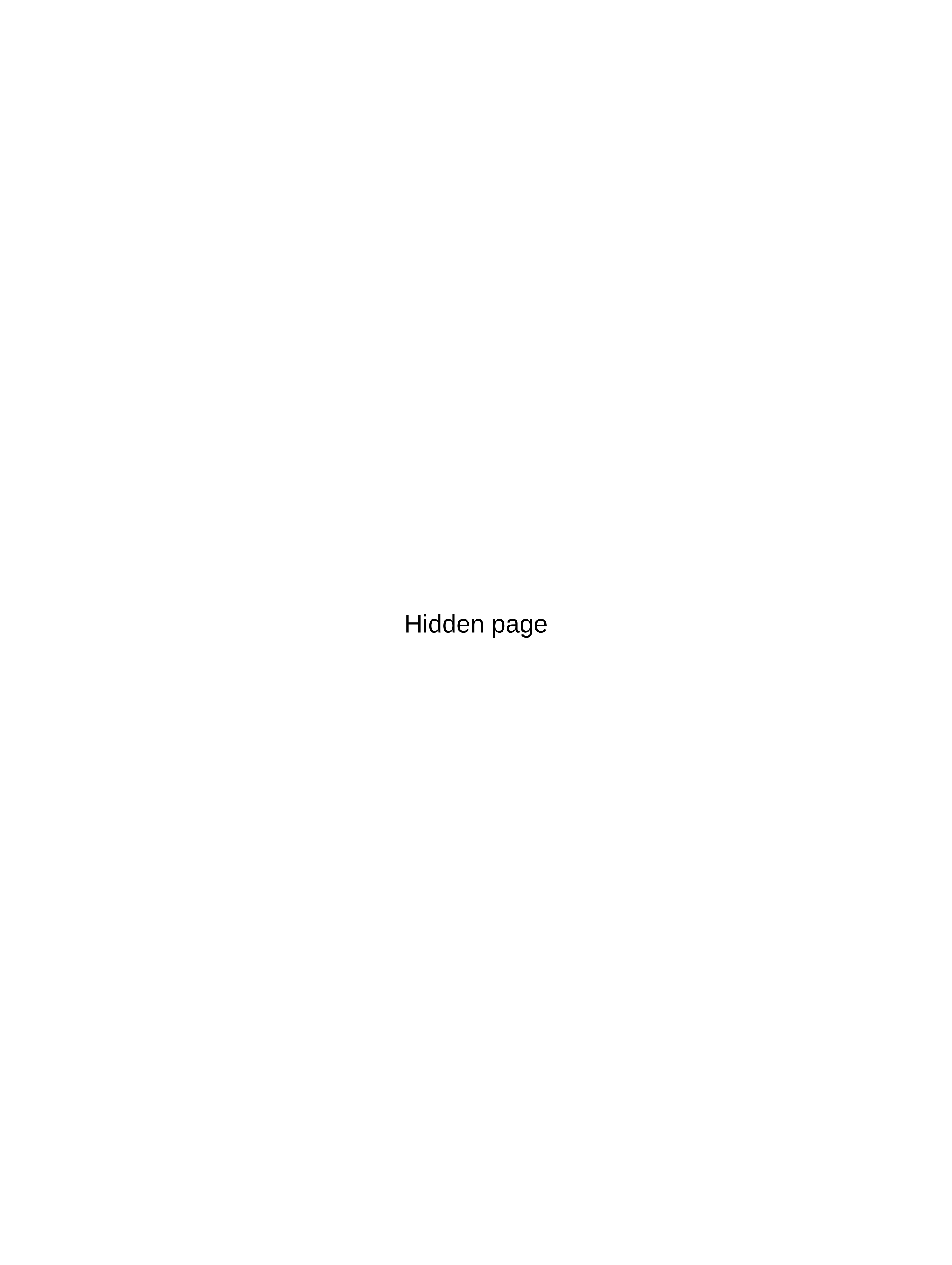
1. **c.** La néoglucogenèse.

2. **b.** Deux molécules de pyruvate.

3. **b.** Deux molécules d'ATP.

4. **b.** La chaîne respiratoire est une suite d'oxydoréductions.
   e. Le cycle de Krebs a lieu dans la matrice mitochondriale.

5. Vrai ou faux ?
   a. La dégradation des molécules organiques s'appelle le « catabolisme » V.
   b. L'anabolisme permet de reconstituer le stock d'ATP F.
   c. La fermentation lactique consomme de l'oxygène F.
   d. La glycolyse précède la fermentation lactique V.
   e. Les hétérotrophes sont capables de synthétiser leurs matières organiques en dégradant les éléments chimiques minéraux du milieu F.


Hidden page

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ALAIS Ch., LINDEN G., *Abrégé de biochimie alimentaire*, Paris, Masson, 1997.

ARNAUD P., *Cours de chimie organique*, Paris, Gaulhier-Villars, 1980.

CLAVERIE I, HEDDE H., *Pharmacologie générale et toxicologie : mécanismes d'action*, Cahier du préparateur en pharmacie, Rueil-Malmaison, Wolters Kluwer, coll. « Porphyre », 2008

ÉTIENNE J., *Biochimie génétique. Biologie moléculaire*, Paris, Masson, coll. « Abrégés », 1994.

FRÉNOT M., VIERLING E., *Biochimie des aliments. Diététique du sujet bien portant*, Paris, Doin/CRDP d'Aquitaine, coll. « Sciences des aliments », 1997.

GAZENGEL J.M., ORECCHIONI A.M., *Le préparateur en pharmacie*, Tec et Doc, 1999.

GALLIEN C. L, *Biologie cellulaire*, Paris, PUF, 1994.

JACOTOT B., LE PARCO J.C.P., *Nutrition et alimentation*, Masson, 1992.

Grand Guide du préparateur en pharmacie, Rueil-Malmaison, Wolters Kluwer, coll. « Porphyre », 2008.

LEGRAND J., *Manuel du préparateur*, Paris, Masson, 1990.

LEHNINGER A.L., NELSON J.P., COX F., *Principes de biochimie*, Paris, Flammarion Médecine-Sciences, 1985.

WEIL J.-H., *Biochimie générale*, Paris, Masson, 1987.

www.gene.com/ae/AB/GG/dna_molecule.htm

Hidden page

Dans la collection
« CAHIERS DU PRÉPARATEUR EN PHARMACIE » :

- Botanique, pharmacognosie, phytothérapie (3e édition) – O. *Catier*, D. *Roux*
- Chimie générale et organique – K. *Slama*
- Commentaires techniques écrits – E. *Montagnac*
- Législation-Gestion – J.-M. *Fonteneau*, S. *Liozon*
- Microbiologie-Immunologie (2e édition) – C. *Baudry*, H. *Brézellec*
- Pharmacie galénique (2e édition) – O.*Allo*, P. *Blanc*, M.-A. *Dalmasso*
- Pharmacologie BP – Classes pharmacologiques (3e édition) – D. *Stora*
- Pharmacologie générale – Toxicologie (2e édition) – I. *Claverie*, H. *Hedde*
- Reconnaissances BP (3e édition) – P. *Klusiewicz*, M.-J. *Thézan*
- Travaux pratiques de préparation et de conditionnement des médicaments – J.-M. *Fonteneau*, P. *Klusiewicz*

ISBN : 978-2-915585-74-2



21€00

www.wk-Pharma.fr/librairie